

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 966**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2009 E 09757570 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 2280705**

54 Título: **Compuestos novedosos**

30 Prioridad:

05.06.2008 US 58957 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

19.01.2015

73 Titular/es:

**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**BALDWIN, IAN ROBERT;
DOWN, KENNETH DAVID;
FAULDER, PAUL;
GAINES, SIMON;
HAMBLIN, JULIE NICOLE;
JONES, PAUL SPENCER;
LE, JOELLE;
PARR, NIGEL JAMES;
RITCHIE, TIMOTHY JOHN;
ROBINSON, JOHN EDWARD;
SIMPSON, JULIET KAY y
SMETHURST, CHRISTIAN ALAN PAUL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 526 966 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos novedosos

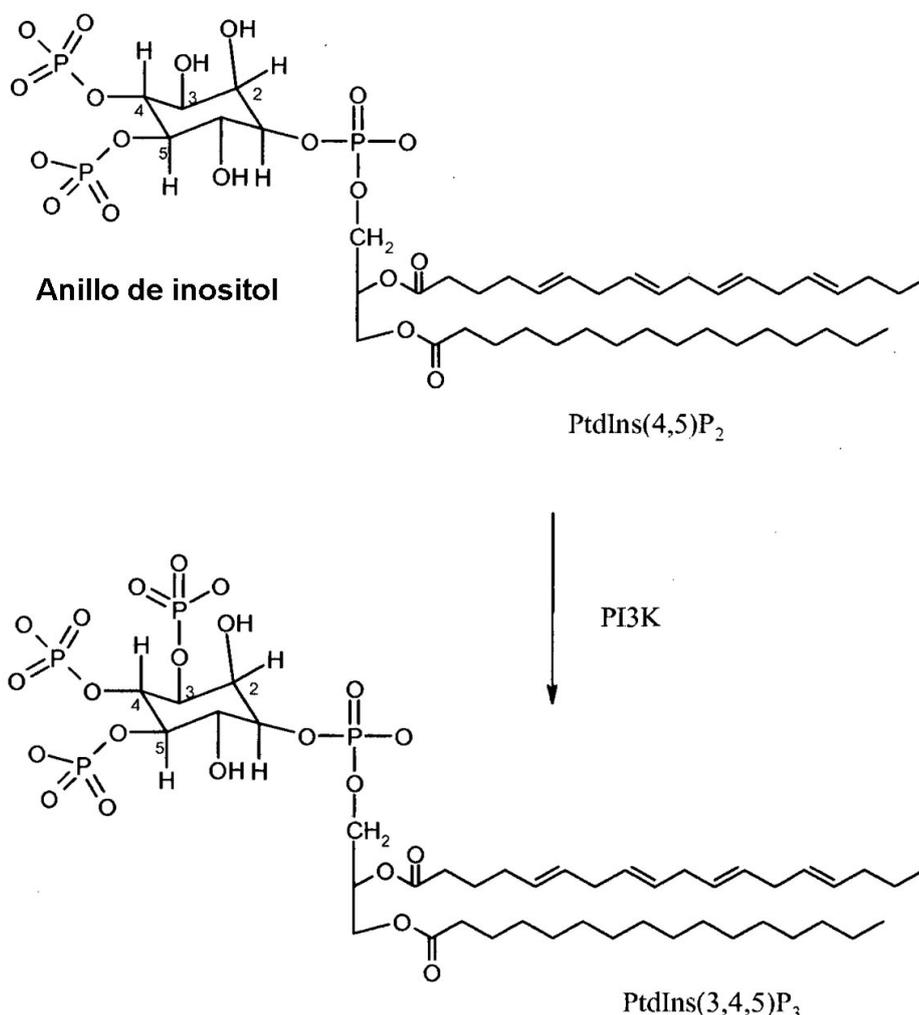
Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a determinados compuestos novedosos que son inhibidores de la actividad o la función de la familia de fosfoinosítido 3'OH quinasa (en adelante en el presente documento PI3-quinasas), a procedimientos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y al uso de los compuestos o las composiciones en el tratamiento de diversos trastornos. Más específicamente, los compuestos de la invención son inhibidores de la actividad o la función de, por ejemplo, PI3K δ , PI3K α , PI3K β y/o PI3K γ . Los compuestos que son inhibidores de la actividad o la función de PI3-quinasas pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos tales como enfermedades respiratorias, incluidas asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); enfermedades alérgicas, incluidas la rinitis alérgica y la dermatitis atópica; enfermedades autoinmunitarias, incluidas la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple; trastornos inflamatorios, incluida la enfermedad intestinal inflamatoria; enfermedades cardiovasculares, incluidas la trombosis y la aterosclerosis; neoplasias hematológicas; fibrosis quística; enfermedades neurodegenerativas; pancreatitis; insuficiencia multiorgánica; enfermedades renales; agregación plaquetaria; cáncer; motilidad del esperma; rechazo de trasplante; rechazo de injerto; lesiones pulmonares; y dolor, incluidos el dolor asociado con la artritis reumatoide o con la osteoartritis, dolor de espalda, dolor inflamatorio general, neuralgia posthepática, neuropatía diabética, dolor neuropático inflamatorio (traumatismo), neuralgia del trigémino y dolor central.

Antecedentes de la invención

20 Las membranas celulares representan un almacén grande de segundos mensajeros que se pueden enumerar en una diversidad de vías de transducción de señal. En relación con la función y la regulación de las enzimas efectoras en las vías de señalización de fosfolípidos, las PI3-quinasas de clase I (por ejemplo, la PI3Kdelta) generan segundos mensajeros a partir de las agrupaciones de fosfolípidos de la membrana. Las PI3K de clase I convierten al fosfolípido PI(4,5)P₂ de la membrana en PI(3,4,5)P₃, que funciona como segundo mensajero. PI y PI(4)P son también sustratos de la PI3K y de pueden fosforilar y convertir en PI3P y PI(3,4)P₂, respectivamente. Además, estos fosfoinosítidos se pueden convertir en otros fosfoinosítidos mediante fosfatasa específicas de 5' y específicas de 3'. Por lo tanto, la actividad enzimática de PI3K tiene como consecuencia, directa o indirectamente, la generación de dos subtipos de 3'-fosfoinosítido que funcionan como segundos mensajeros en las vías de transducción de señal intracelulares (Trends Biochem. Sci. 22(7) pág. 267-72 (1997) por Vanhaesebroeck y col.; Chem. Rev. 101(8) pág. 2365-80 (2001) por Leslie y col.; Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17 p. 615-75 (2001) por Katso y col.; y Cell. Mol. Life Sci. 59(5) pág. 761-79 (2002) de Toker). Hasta la fecha se han identificado ocho PI3K de mamífero, divididas en tres clases principales (I, II y III) en base a la homología de secuencia, estructura, asociados de unión, modo de activación y preferencia de sustrato. *In vitro*, las PI3K de clase I pueden fosforilar fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositol-4-fosfato (PI4P) y fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PI(4,5)P₂) para producir fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P), fosfatidilinositol-3,4-bisfosfato (PI(3,4)P₂) y fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PI(3,4,5)P₃), respectivamente. Las PI3K de clase II pueden fosforilar PI y PI4P. Las PI3K de clase III solo pueden fosforilar el PI (Vanhaesebroeck y col. (1997), anteriormente; Vanhaesebroeck y col. Exp. Cell Res. Cell Res. 253(1) pág. 239-54 (1999); y Leslie y col. (2001), anteriormente).

40 La PI3K de clase I es un heterodímero que consiste en una subunidad catalítica p110 y una subunidad reguladora, y la familia se divide adicionalmente en enzimas de clase Ia y de clase Ib en base a los asociados reguladores y al mecanismo de regulación. Las enzimas de clase Ia consisten en tres subunidades catalíticas distintas (p110 α , p110 β y p110 δ) que se dimerizan con cinco subunidades reguladoras distintas (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β y p55 γ), siendo todas las subunidades catalíticas capaces de interactuar con todas las subunidades reguladoras para formar una diversidad de heterodímeros. Las PI3K de clase Ia se activan generalmente en respuesta a la estimulación del factor de crecimiento de las tirosina quinasa del receptor mediante la interacción de los dominios SH2 de la subunidad reguladora con residuos específicos de fosfotirosina del receptor activado o proteínas adaptadoras tales como IRS-1. Las GTPasas pequeñas (ras, por ejemplo) también están implicadas en la activación de la PI3K junto con la activación de la tirosina quinasa del receptor. Tanto p110 α como p110 β se expresan de forma constitutiva en todos los tipos celulares, mientras que la expresión de p110 δ está más restringida a las poblaciones de leucocitos y algunas células epiteliales. Por el contrario, la enzima sencilla de clase Ib consiste en una subunidad catalítica p110 γ que interactúa con una subunidad reguladora p101. Además, la enzima de clase Ib se activa en respuesta a sistemas de receptor acoplado a proteína G (GPCR) y su expresión parece estar limitada a leucocitos.

Esquema A: Conversión de PI(4,5)P₂ a PI(4,5)P₃

Como se ilustra en el esquema A anterior, las fosfoinosítido 3-quinasas (PI3K) fosforilan el hidroxilo del tercer carbono del anillo de inositol. La fosforilación de fosfoinosítidos para generar PtdIns(3,4,5)P₃, PtdIns(3,4)P₂ y PtdIns(3)P produce segundos mensajeros para una diversidad de vías de transducción de la señal, incluidos los esenciales para la proliferación celular, la diferenciación celular, el crecimiento celular, el tamaño celular, la supervivencia celular, la apoptosis, la adhesión, la motilidad celular, la migración celular, la quimiotaxis, la invasión, el reordenamiento citoesquelético, los cambios de forma de las células, el tráfico de vesículas y la vía metabólica (Katso y col. (2001), anteriormente; y Mol. Med. Today 6(9) pág. 347-57 (2000) de Stein y col.).

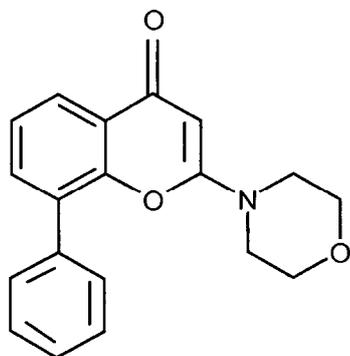
Inicialmente, se identificó que la actividad de las PI3-quinasas responsables de generar estos productos de señalización fosforilados estaba asociada con oncoproteínas víricas y tirosina quinasa del receptor del factor de crecimiento que fosforilan el fosfatidilinositol (PI) y sus derivados fosforilados en el grupo 3'-hidroxilo del anillo de inositol (Panayotou y col. Trends Cell Biol. 2 pág. 358-60 (1992)). No obstante, en estudios bioquímicos más recientes se ha revelado que las PI3-quinasas de clase I (por ejemplo, la isoforma PI3K δ de clase IA) son enzimas quinasa con especificidad doble, lo que significa que muestran actividad de lipoquinasa (fosforilación de fosfoinosítidos), así como actividad de proteína quinasa, y son capaces de fosforilar otras proteínas como sustratos, incluida la autofosforilación como mecanismo regulador intramolecular (EMBO J. 18(5) pág. 1292-302 (1999) por Vanhaesebroeck y col.). Entre los procesos celulares en los que las PI3K desempeñan un papel esencial se incluyen la supresión de la apoptosis, la reorganización del esqueleto de la actina, el crecimiento de los miocitos cardíacos, la estimulación de la glucógeno sintasa por insulina, la sensibilización de neutrófilos mediada por el TNF α y la generación de superóxido, y la migración y adhesión de leucocitos a las células endoteliales.

Se cree que la activación de la PI3-quinasa está implicada en una amplia serie de respuestas celulares, entre las que se incluyen el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis celular (Parker, Current Biology 5(6) pág. 577-79 (1995); y Yao y col. Science 267(5206) pág. 2003-06 (1995)). Parece que la quinasa PI3 está implicada en una serie de aspectos de la activación leucocitaria. Se ha mostrado que una PI3-quinasa asociada con p85 se asocia

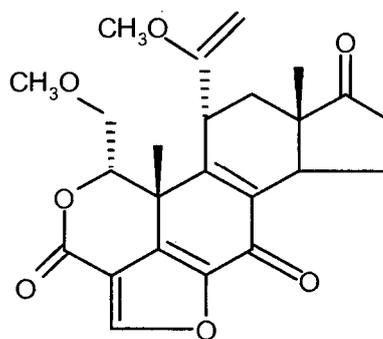
físicamente con el dominio citoplásmico del CD28, que es una importante molécula coestimuladora para la activación de linfocitos T en respuesta a un antígeno (Pages y col. *Nature* 369 pág. 327-29 (1994); y Rudd, *Immunity* 4 pág. 527-34 (1996)). La activación de los linfocitos T a través del CD28 disminuye el umbral de la activación por el antígeno y aumenta la magnitud y la duración de la respuesta proliferativa. Estos efectos están relacionados con aumentos en la transcripción de una serie de genes, incluida la interleucina-2 (IL2), un importante factor de crecimiento de linfocitos T (Fraser y col. *Science* 251(4991) pág. 313-16 (1991)).

La PI3K γ se ha identificado como mediador de la regulación dependiente de G beta-gamma de la actividad de JNK, y G beta-gamma son subunidades de proteínas G heterotriméricas (López-Illasaca y col. *J. Biol. Chem.* 273(5) pág. 2505-8 (1998)). Recientemente, (Laffargue y col. *Immunity* 16(3) pág. 441-51 (2002)) se ha descrito que la PI3K γ transmite las señales inflamatorias a través de diversos receptores acoplados a G(i) y es crucial para la función de los mastocitos, estímulos en el contexto de los leucocitos e inmunología, incluidos, por ejemplo, citocinas, quimiocinas, adenosinas, anticuerpos, integrinas, factores de agregación, factores de crecimiento, virus u hormonas (*J. Cell Sci.* 114 (Pt 16) pág. 2903-10 (2001) por Lawlor y col.; Laffargue y col. (2002), anteriormente; y *Curr. Opin. Cell Biol.* 14(2) pág. 203-13 (2002) por Stephens y col.).

Los inhibidores específicos frente a miembros individuales de una familia de enzimas proporcionan herramientas valiosas para descifrar las funciones de cada enzima. Dos compuestos, LY294002 y wortmanina (más adelante en el presente documento), se han usado ampliamente como inhibidores de la PI3-quinasa. Estos compuestos son inhibidores inespecíficos de la PI3K, ya que no distinguen entre los cuatro miembros de las PI3-quinasas de clase I. Por ejemplo, los valores de CI₅₀ de la wortmanina frente a cada una de las diversas PI3-quinasas de clase I están en el intervalo de 1-10 nM. De forma similar, los valores de CI₅₀ para LY294002 frente a estas PI3-quinasas es de aproximadamente 15-20 μ M (Fruman y col. *Ann. Rev. Biochem.* 67 pág. 481-507 (1998)), también 5-10 μ M en la proteína quinasa CK2 y alguna actividad inhibitoria sobre fosfolipasas. La wortmanina es un metabolito fúngico que inhibe de forma irreversible la actividad de la PI3K mediante la unión covalente al dominio catalítico de esta enzima. La inhibición de la actividad de la PI3K por la wortmanina elimina la respuesta celular subsiguiente al factor extracelular. Por ejemplo, los neutrófilos responden a la quimiocina fMet-Leu-Phe (fMLP) mediante estimulación de la PI3K y síntesis de PtdIns (3, 4, 5)P₃. Esta síntesis se correlaciona con la activación del estallido respiratorio implicado en la destrucción de los neutrófilos de microorganismos invasores. El tratamiento de los neutrófilos con wortmanina previene la respuesta de estallido respiratorio inducida por fMLP (Thelen y col. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 pág. 4960-64 (1994)). De hecho, estos experimentos con wortmanina, así como otras pruebas experimentales, muestran que la actividad de la PI3K en células de linaje hematopoyético, particularmente neutrófilos, monocitos y otros tipos de leucocitos, está implicada en muchas de las respuestas inmunitarias sin memoria asociadas con la inflamación aguda y crónica.



LY294002



WORTMANINA

En base a estudios que usan wortmanina, existen pruebas de que la función de PI3-quinasa también es necesaria para algunos aspectos de la señalización de leucocitos a través de receptores acoplados a proteína G (Thelen y col. (1994), anteriormente). Además, se ha demostrado que la wortmanina y el LY294002 bloquean la migración de los neutrófilos y la liberación de superóxido.

Actualmente se entiende bien que la alteración de regulación de los oncogenes y de los genes supresores tumorales contribuye a la formación de tumores malignos, por ejemplo mediante el aumento del crecimiento y la proliferación celular o el aumento de la supervivencia celular. También se sabe que las vías de señalización mediadas por la familia de PI3K poseen un papel crucial en una serie de procesos celulares, entre los que se incluyen la proliferación y la supervivencia, y la alteración de la regulación de estas vías es un factor causante de un amplio espectro de cánceres humanos y de otras enfermedades (Katso y col. *Annual Rev. Cell Dev. Biol.* (2001) 17 pág. 615-675 y Foster y col. *J. Cell Science* (2003) 116(15) pág. 3037-3040). Las proteínas efectoras PI3K inician vías y redes de señalización mediante la translocación a la membrana plasmática a través de un dominio conservado de homología con pleckstrina (PH), que interacciona específicamente con PtdIns(3,4,5)P₃ (Vanhaesebroeck y col. *Annu. Rev.*

Biochem. (2001) 70 pág. 535-602). La señalización de las proteínas efectoras a través de PtdIns(3,4,5)P3 y los dominios PH incluyen aerina/treonina (Ser/Thr) quinasas, tirosina quinasas, Rac o Arf GEF (factores de intercambio del nucleótido de guanina) y Arf GAP (proteínas activadoras de GTPasa).

5 En los linfocitos T y B, las PI3K tienen un papel importante a través de la activación de la familia Tec de proteínas tirosina quinasas, que incluyen la tirosina quinasa de Bruton (BTK) en los linfocitos B y la quinasa de linfocitos T inducible por interleucina-2 (ITK) en linfocitos T. Tras la activación de PI3K, BTK o ITK se translocan a la membrana plasmática, en la que son fosforiladas subsiguientemente por las Src quinasas. Una de las principales dianas de la ITK activada es la fosfolipasa C-gamma (PLC γ 1), que hidroliza PtdIns(4,5)P2 dando Ins(3,4,5)P3 e inicia un aumento intracelular de los niveles de calcio y del diacilglicerol (DAG), que puede activar las proteínas quinasas C en los linfocitos T activados.

10 A diferencia que p110 α y p110 β de clase IA, p110 δ se expresa de un modo restringido en los tejidos. Su elevado nivel de expresión en linfocitos y tejidos linfoides sugiere un papel en la señalización mediada por PI3K en el sistema inmunológico. Ratones muertos defectivos en p110 δ quinasa también son viables y su fenotipo está restringido a los defectos en la señalización inmunitaria (Okkenhaug y col. Science 2002(297) pág. 1031-4). Estos ratones transgénicos han ofrecido conocimientos de la función de PI3K δ en la señalización de los linfocitos B y los linfocitos T. En particular, se requiere p110 δ para la formación de PtdIns(3,4,5)P3 posteriormente a la señalización de CD28 y/o el receptor de linfocitos T (TCR). Un efecto clave de la señalización de PI3K posteriormente al TCR es la activación de Akt, que fosforila los factores antiapoptóticos así como diversos factores de transcripción para la producción de citocinas. Como consecuencia, los linfocitos T que inactivan p110 δ tienen defectos en la proliferación y la secreción de citocinas por Th1 y Th2. La activación de los linfocitos T a través del CD28 disminuye el umbral de la activación del TCR por el antígeno y aumenta la magnitud y la duración de la respuesta proliferativa. Estos efectos están mediados por el aumento dependiente de PI3K δ en la transcripción de una serie de genes, incluido IL2, un importante factor de crecimiento de linfocitos T.

25 Por lo tanto, se prevé que los inhibidores de PI3K proporcionen beneficio terapéutico a través de su papel en la modulación de las respuestas inflamatorias mediadas por linfocitos T asociadas con enfermedades respiratorias tales como asma, EPOC y fibrosis quística. Además, se ha indicado que las terapias dirigidas a linfocitos T pueden proporcionar propiedades de ahorro de corticosteroides (Alexander y col. Lancet (1992) 339 p. 324-8), lo que sugiere que puede proporcionar una terapia útil bien solos o bien en combinación con glucocorticosteroides inhalados o de uso oral en enfermedades respiratorias. Un inhibidor de PI3K podría usarse también junto con otras terapias convencionales tales como los agonistas beta de acción prolongada (LABA) en asma.

30 En la vasculatura, la PI3K δ se expresa por células endoteliales y participa en el tráfico de neutrófilos modulando el estado proadhesivo de estas células en respuesta al TNF-alfa (Puri y col. Blood (2004) 103(9) pág. 3448-56). Se demuestra un papel para PI3K δ en la señalización inducida por TNF alfa de las células endoteliales por la inhibición farmacológica de la fosforilación de Akt y la actividad de PDK1. Además, la PI3K δ está implicada en la permeabilidad vascular y el edema tisular de las vías aéreas a través de la vía del VEGF (Lee y col. J. Allergy Clin. Immunol. (2006) 118(2) pág. 403-9). Estas observaciones sugieren beneficios adicionales para la inhibición de PI3K δ en asma mediante la reducción combinada de la extravasación leucocitaria y la permeabilidad vascular asociadas con asma. Además, la actividad de la PI3K δ se requiere para la función de los mastocitos tanto *in vitro* como *in vivo* (Ali y col. Nature (2004) 431 pág. 1007-11; y Ali y col. J. Immunol. (2008) 180(4) pág. 2538-44), lo que además sugiere que la inhibición de la PI3K debería ser de beneficio terapéutico para las indicaciones alérgicas, tales como asma, rinitis alérgica y dermatitis atópica.

40 El papel de la PI3K δ en la proliferación de linfocitos B, la secreción de anticuerpos, la señalización del antígeno de linfocitos B y del receptor de IL-4, la función de presentación de antígeno a los linfocitos B, también ha sido bien establecido, Okkenhaug y col. (2002), anteriormente; Al-Alwan y col. J. Immunol. (2007) 178(4) pág. 2328-35; y Bilancio y col. Blood (2006) 107(2) pág. 642-50) e indica un papel en enfermedades autoinmunitarias tales como artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico. Por lo tanto, los inhibidores de la PI3K pueden también ser beneficiosos para estas indicaciones.

50 La inhibición farmacológica de la PI3K δ inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos dependiente de fMLP sobre un sistema sesgado dependiente de la integrina de la matriz de agarosa recubierta con ICAM (Sadhu y col., J. Immunol. (2003) 170(5) pág. 2647-54.). La inhibición de la PI3K δ regula la activación, adhesión y migración de neutrófilos sin afectar a la fagocitosis mediada por neutrófilos y la actividad bactericida sobre *Staphylococcus aureus* (Sadhu y col. Biochem. Biophys. Res. Commun. (2003) 308(4) pág. 764-9). En general, los datos sugieren que la inhibición de la PI3K δ no debería inhibir globalmente las funciones de los neutrófilos requeridas para la defensa inmunitaria innata. El papel de la PI3K δ en los neutrófilos ofrece un ámbito adicional para tratar enfermedades inflamatorias que implican remodelación tisular, tal como EPOC o artritis reumatoide.

60 Además, existen también buenas pruebas de que las enzimas PI3K de clase Ia también contribuyen a la tumorigénesis en una amplia variedad de cánceres humanos, bien directa o indirectamente (Vivanco y Sawyers, Nature Reviews Cancer (2002) 2(7) pág. 489-501). Por ejemplo, la inhibición de PI3K δ puede tener un papel terapéutico para el tratamiento de trastornos hematológicos malignos, tales como leucemia mieloide aguda (Billottet y col. Oncogene (2006) 25(50) pág. 6648-59). Además, las mutaciones activadores dentro de p110 α (gen de

PIK3CA) se han asociado con otros diversos tumores tales como los de colon y de mama y de pulmón (Samuels y col. Science (2004) 304(5670) pág. 554).

También se ha mostrado que la PI3K está implicada en el establecimiento de la sensibilización central en afecciones inflamatorias dolorosas (Pezet y col. The J. of Neuroscience (2008) 28 (16) pág. 4261-4270).

5 Se han realizado intentos de preparación de compuestos que inhiben la actividad de la PI3-quinasa y en la técnica se han divulgado una serie de dichos compuestos. No obstante, en vista del número de respuestas patológicas que están mediadas por las PI3-quinasas, existe una necesidad continua de inhibidores de la PI3-quinasa, que se pueden usar en el tratamiento de una diversidad de afecciones.

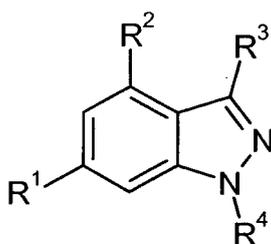
10 Los presentes inventores han descubierto compuestos novedosos que son inhibidores de la actividad de PI3-quinasa. Los compuestos que son inhibidores de la PI3-quinasa pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos asociados con una actividad de PI3-quinasa inadecuada, por ejemplo en el tratamiento y la prevención de trastornos mediados por mecanismos de la PI3-quinasa. Dichos trastornos incluyen enfermedades respiratorias, incluidas asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); enfermedades alérgicas, incluidas la rinitis alérgica y la dermatitis atópica; enfermedades autoinmunitarias, incluidas la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple; trastornos inflamatorios, incluida la enfermedad intestinal inflamatoria; enfermedades cardiovasculares, incluidas la trombosis y la aterosclerosis; neoplasias hematológicas; fibrosis quística; enfermedades neurodegenerativas; pancreatitis; insuficiencia multiorgánica; enfermedades renales; agregación plaquetaria; cáncer; motilidad del espermatozoide; rechazo de trasplante; rechazo de injerto; lesiones pulmonares; y dolor, incluidos el dolor asociado con la artritis reumatoide o con la osteoartritis, dolor de espalda, dolor inflamatorio general, neuralgia posthepática, neuropatía diabética, dolor neuropático inflamatorio (traumatismo), neuralgia del trigémino y dolor central.

En una realización, los compuestos de la invención pueden mostrar selectividad por las PI3-quinasas sobre otras quinazinas. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden mostrar selectividad por PI3-quinasas sobre proteínas quinazinas dependientes de ADN (DNA-PK).

25 En una realización, los compuestos de la invención pueden mostrar selectividad por PI3Kδ sobre otras PI3-quinasas. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden mostrar selectividad por PI3Kδ sobre PI3Kα y/o PI3Kβ. El documento WO 03/051847 divulga indazol-3-il-amidas para el tratamiento de inflamación, enfermedades cardiovasculares y afecciones neurodegenerativas.

Sumario de la invención

30 La invención se refiere a determinados compuestos novedosos. Específicamente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



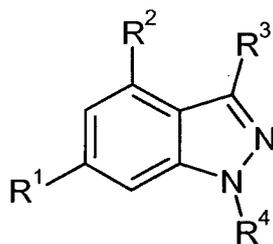
(I)

en la que R¹, R², R³ y R⁴ son como se definen más adelante, y sus sales.

35 Los compuestos son inhibidores de la actividad de PI3-quinasa. Los compuestos que son inhibidores de la PI3-quinasa pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos asociados con una actividad PI3-quinasa inadecuada, tal como asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). En consecuencia, la invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. La invención se refiere también a procedimientos de inhibición de la actividad PI3-quinasa y el tratamiento de trastornos asociados usando un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. La invención se refiere también a procedimientos para la preparación de los compuestos de la invención.

Descripción detallada de la invención

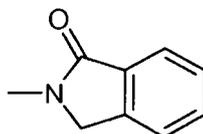
En una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



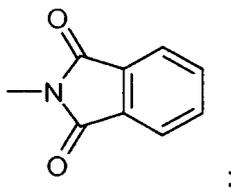
(I)

en la que

- 5 R¹ es un heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de forma independiente de oxígeno y nitrógeno, y está sustituido opcionalmente por alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, halo o -CN;
 R² es -NHCOR⁵,



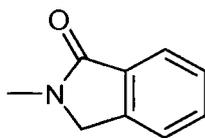
o



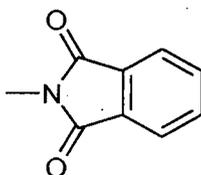
- 10 R³ es hidrógeno o flúor;
 R⁴ es hidrógeno o metilo;
 R⁵ es
 cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con fenilo; heterociclilo de 5 o 6 miembros, en el que el heterociclilo de 5 o 6 miembros contienen uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno y está
 15 opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, alquilo C₁₋₆, -OR⁶, -COR⁷, -CO₂R⁸ y -SO₂R⁹;
 fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alquilo C₁₋₆, -OR¹⁰, halo y -NR¹¹R¹² y fenilo opcionalmente sustituido con halo;
 -CH₂-heteroarilo de 5 o 6 miembros en el que el heteroarilo de 5 o 6 miembros contiene uno o dos átomos de
 20 nitrógeno y está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;
 pirazina opcionalmente sustituida con -OR¹³; o
 heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno;
 R⁶, R¹¹, R¹² y R¹³ son cada uno, de forma independiente, hidrógeno o alquilo C₁₋₆;
 25 R⁷ y R⁹ son cada uno independientemente alquilo C₁₋₆;
 R⁸ es hidrógeno o -(CH₂)_mfenilo;
 R¹⁰ es alquilo C₁₋₆ sustituido opcionalmente con de uno a tres átomos de flúor; y
 m es 0, 1 o 2;
 y sales de los mismos (en adelante en el presente documento "compuestos de la invención").

- 30 En una realización, R¹ es un heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de forma independiente entre oxígeno y nitrógeno. En otra realización, R¹ es indolilo.

En una realización, R² es -NHCOR⁵. En otra realización, R² es



En otra realización, R² es



En una realización, R³ es hidrógeno.

5 En una realización, R⁴ es hidrógeno.

En una realización, R⁵ es cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con fenilo. En otra realización, R⁵ es un grupo ciclopropilo opcionalmente sustituido con fenilo. En otra realización, R⁵ es ciclohexilo.

10 En una realización, R⁵ es heterociclilo de 5 o 6 miembros, en el que el heterociclilo de 5 o 6 miembros contienen uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, alquilo C₁₋₆, por ejemplo alquilo C₁₋₄, tal como metilo o isopropilo, -OR⁶, -COR⁷, -CO₂R⁸ y -SO₂R⁹.

En una realización, R⁵ es fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alquilo C₁₋₆, por ejemplo alquilo C₁₋₄, tal como metilo, -OR¹⁰, halo, -NR¹¹R¹² y fenilo opcionalmente sustituido con halo.

15 En una realización, R⁵ es -CH₂-heteroarilo de 5 o 6 miembros, en el que el heteroarilo de 5 o 6 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno y está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; En otra realización, R⁵ es -CH₂-pirazolilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, por ejemplo alquilo C₁₋₄ tal como metilo. En otra realización, R⁵ es -CH₂-piridinilo.

En otra realización, R⁵ es pirazina opcionalmente sustituida con -OR¹³.

20 En una realización, R⁵ es heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno; En otra realización, R⁵ es indolilo, bencimidazolilo, pirazolopiridinilo o isoquinolinilo.

En una realización, R⁶ es hidrógeno.

En una realización, R⁷ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo.

25 En una realización, R⁸ es -(CH₂)_qfenilo.

En una realización, R⁹ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo.

En una realización, R¹⁰ es alquilo C₁₋₄ tal como metilo o etilo, opcionalmente sustituido con uno o dos átomos de flúor.

30 En una realización R¹¹ y R¹² son cada uno hidrógeno. En otra realización, R¹¹ y R¹² son cada uno independientemente alquilo C₁₋₄ tal como metilo.

En una realización, R¹³ es alquilo C₁₋₄, tal como metilo.

En una realización, m es 1.

Debe entenderse que la presente invención abarca todas las combinaciones de grupos sustituyentes descritas anteriormente en el presente documento.

35 Compuestos de la invención incluyen los compuestos de los ejemplos 1 a 37 y sus sales.

En una realización, el compuesto de la invención es:

- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 2-fluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 2,3-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 2,5-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 5 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-metilbenzamida;
 2'-cloro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-bifenilcarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-isoquinolinacarboxamida;
 2,4-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 2,6-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 10 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(metiloxi)benzamida;
 2-(((difluorometil)oxi)-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]piridina-2-carboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-6-(metiloxi)-2-pirazinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-bencimidazol-2-carboxamida;
 15 *N*-[6-(1 *H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-indol-2-carboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-(metiloxi)benzamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-5-metil-2-(metiloxi)benzamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(3-metil-1*H*-pirazol-1-il)acetamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metil-2-(metiloxi)benzamida;
 20 2-((etiloxi)-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 4-acetil-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-morfolinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(2-piridinil)acetamida;
 2-[6-(1 *H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona;
 2-[6-(1 *H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-1-ona;
 25 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metilbenzamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-morfolinacarboxamida;
 1-acetil-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-piperidinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-metil-4-piperidinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-(metilsulfonil)-4-piperidinacarboxamida;
 30 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-5-oxo-3-pirrolidinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-(1-metiletil)-5-oxo-3-pirrolidinacarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]ciclopropanocarboxamida;
 3-((dimetilamino)-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 4-amino-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
 35 (1*R*,2*R*)-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-fenilciclopropanocarboxamida;
N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]ciclohexanocarboxamida;

3-hidroxi-4-([6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]amino)carbonil)-1-pirrolidinacarboxilato de fenilmetilo; o una sal de los mismos.

Términos y definiciones

5 **"Alquilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo saturada que tiene el número especificado de átomos miembros. Por ejemplo, alquilo C₁₋₆ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos miembros. De forma similar, alquilo C₁₋₄ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos miembros. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramas. Alquilo incluye metilo, etilo, propilo (n-propilo e isopropilo), butilo (n-butilo y t-butilo), pentilo (n-pentilo, isopentilo y neopentilo) y hexilo. En una realización, alquilo es metilo. En otra realización, alquilo es etilo. En otra realización, alquilo es isopropilo.

10 **"Cicloalquilo"** se refiere a un anillo de hidrocarburo saturado que tiene el número especificado de átomos miembros. Los grupos cicloalquilo son sistemas de anillo monocíclicos. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₆ se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos miembros. En una realización, los grupos cicloalquilo tienen 3 o 4 átomos miembros. En otra realización, los grupos cicloalquilo tienen 5 o 6 átomos miembros. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define de este modo en el presente documento. Se apreciará que el sustituyente puede estar en cualquier posición en el anillo, incluido el átomo de carbono que es el punto de unión al resto de la molécula. Cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. En una realización, cicloalquilo es ciclopropilo. En otra realización, cicloalquilo es ciclohexilo.

15 **"Enantioméricamente enriquecido"** se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es superior a cero. Por ejemplo, enantioméricamente enriquecido se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es superior al 50 % de ee, superior al 75 % de ee y superior al 90 % de ee.

20 **"Exceso enantiomérico" o "ee"** es el exceso de un enantiómero sobre el otro expresado en forma de porcentaje. Como resultado, dado que ambos enantiómeros están presentes en cantidades iguales en una mezcla racémica, el exceso enantiomérico es cero (0 % de ee). No obstante, si un enantiómero se ha enriquecido de modo que constituya el 95 % del producto, el exceso enantiomérico sería del 90 % de ee (la cantidad del enantiómero enriquecido, el 95 %, menos la cantidad del otro enantiómero, el 5 %).

25 **"Enantioméricamente puro"** se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es el 99 % de ee o superior.

"Semivida" (o "semividas") se refiere al tiempo requerido para que la mitad de una cantidad de una sustancia se convierta en otra especie químicamente distinta *in vitro* o *in vivo*.

30 **"Halo"** se refiere al radical halógeno flúor, cloro, bromo o yodo. En una realización, el radical halógeno es flúor, cloro o bromo.

35 **"Heteroarilo"**, a menos que se defina de otro modo, se refiere a un grupo aromático que contiene de 1 a 3 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Los grupos heteroarilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define de este modo en el presente documento. Los grupos heteroarilo en el presente documento son sistemas de anillo monocíclicos o son sistemas de anillo bicíclicos fusionados. Los anillos de heteroarilo monocíclico tienen 5 o 6 átomos miembros. Los anillos de heteroarilo bicíclico tienen 9 o 10 átomos miembros. Heteroarilo monocíclico incluye pirrolilo, piridinilo, pirazolilo, imidazolilo, pirimidinilo, piridazinilo y pirazinilo. En una realización, heteroarilo monocíclico es pirazolilo o piridinilo. Heteroarilo bicíclico incluye indolilo, isoindolilo, indolizínilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indazolilo, purínilo, bencimidazolilo, pirolopiridinilo, pirazolopiridinilo, pirolopirimidinilo, quinolilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, benzopiránilo, benzoxazolilo, furopiridinilo y naftiridinilo. En una realización, heteroarilo bicíclico es indolilo, bencimidazolilo, pirazolopiridinilo o isoquinolinilo. En otra realización, heteroarilo bicíclico es indolilo.

"Heteroátomo" se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno.

45 **"Heterociclilo"** se refiere a un anillo saturado o insaturado que contiene 1 o 2 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. No obstante, los anillos de heterociclilo no son aromáticos. Los grupos heterociclilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos heterociclilo son sistemas de anillo monocíclico que tienen 5 o 6 átomos miembros en el presente documento. Los grupos heterociclilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes si se define de este modo en el presente documento. En determinadas realizaciones, heterociclilo está saturado. En otras realizaciones, heterociclilo es insaturado, pero no aromático. Heterociclilo incluye pirrolidinilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo y morfolinilo. En una realización, heterociclilo es pirrolidinilo, piperidinilo o morfolinilo.

50 **"Átomos miembros"** se refiere al átomo o átomos que forman una cadena o anillo. Cuando más de un miembro está presente en una cadena y dentro de un anillo, cada átomo miembro está unido covalentemente a un átomo miembro adyacente de la cadena o anillo. Los átomos que forman un grupo sustituyente en una cadena o anillo no son átomos miembros en la cadena o anillo.

55

"Opcionalmente sustituido" indica que un grupo, tal como heteroarilo, puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes si se ha definido de este modo en el presente documento.

5 **"Sustituido"** en referencia a un grupo indica que se reemplaza un átomo de hidrógeno enlazado a un átomo miembro dentro de un grupo. Debe entenderse que el término "sustituido" incluye la condición implícita de que dicha sustitución es conforme a la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente y que la sustitución tiene como resultado un compuesto estable (es decir, uno que no experimenta de forma espontánea transformación mediante, por ejemplo, reordenamiento, ciclación o eliminación). En determinadas realizaciones, un único átomo puede estar sustituido con más de un sustituyente, siempre que dicha sustitución se realice de acuerdo con la valencia permitida del átomo. En el presente documento se definen sustituyentes adecuados para cada grupo sustituido u
10 opcionalmente sustituido.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del ámbito del juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, proporcional a una razonable relación de beneficios/riesgos.

15 Como se usan en el presente documento, los símbolos y convenciones usados en estos procedimientos, esquemas y ejemplos son consecuentes con los usados en la literatura científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society* o el *Journal of Biological Chemistry*. Generalmente se usan abreviaturas convencionales de una letra o de tres letras para designar restos de aminoácidos, que se asume que están en la configuración L, a menos que se indique lo contrario. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se
20 obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, en los ejemplos y a lo largo de toda la memoria se pueden usar las abreviaturas siguientes:

	DCM	Diclorometano
	DIPEA	Diisopropiletilamina
	DMF	N,N-Dimetilformamida
25	DMSO	Dimetilsulfóxido
	g	Gramos
	h	Hora(s)
	HATU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
	HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
30	CLEM	Cromatografía líquida - espectroscopía de masas
	M	Molar
	MeCN	Acetonitrilo
	MeOH	Metanol
	mg	Miligramos
35	min	Minutos
	ml o mL	Mililitros
	mmol	Milimoles
	PS	Soporte polimérico
	Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II)
40	Tr o T _r	Tiempo de retención
	TA	Temperatura ambiente
	SCX	Intercambio fuerte de cationes
	SPE	Extracción en fase sólida
	TFA	Ácido trifluoroacético

THF	Tetrahidrofurano
UPLC	Cromatografía de líquidos de ultraalto rendimiento
UV	Ultravioleta

Todas las referencias a salmuera son a una solución acuosa saturada de NaCl.

- 5 Incluidos dentro del ámbito de los “compuestos de la invención” están todos los solvatos (incluidos los hidratos), complejos, polimorfos, derivados radiomarcados, estereoisómeros e isómeros ópticos de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

10 Los compuestos de la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En estado sólido, los compuestos de la invención pueden existir en forma cristalina o no cristalina, o una mezcla de las mismas. Para los compuestos de la invención que están en forma cristalina, el experto apreciará que se pueden formar solvatos farmacéuticamente aceptables en los que las moléculas de disolvente se incorporan a la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden involucrar disolventes no acuosos, tales como etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina y EtOAc, o pueden involucrar agua como el disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en los que el disolvente que se incorpora en la red cristalina es agua se denominan normalmente “hidratos”.
15 Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención incluye todos esos solvatos.

20 El experto apreciará además que determinados compuestos de la invención que existen en forma cristalina, incluidos los diversos solvatos de los mismos, pueden exhibir polimorfismo (es decir, la capacidad para existir en diferentes estructuras cristalinas). Estas diferentes formas cristalinas normalmente se conocen como “polimorfos”. La invención incluye todos esos polimorfos. Los polimorfos tienen la misma composición química, pero difieren en su empaquetamiento, disposición geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Por lo tanto, los polimorfos pueden tener propiedades físicas diferentes, tales como la forma, la densidad, la dureza, la deformabilidad, la estabilidad y las propiedades de disolución. Normalmente, los polimorfos exhiben diferentes puntos de fusión, espectros IR y patrones de difracción en polvo de rayos X, que se pueden usar para su
25 identificación. El experto apreciará que se pueden producir diferentes polimorfos, por ejemplo, mediante cambio o ajuste de las condiciones o reactivos de reacción, usados en la preparación o recristalización del compuesto. Por ejemplo, los cambios en la temperatura, la presión o el disolvente pueden tener como resultado polimorfos. Además, un polimorfo se puede convertir de forma espontánea en otro polimorfo en determinadas condiciones.

30 La invención también incluye compuestos isotópicamente marcados, que son idénticos a los compuestos de fórmula (I) y sus sales, excepto por el hecho de que uno o más átomos pueden sustituirse por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico más habitual en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y flúor, tales como ^3H , ^{11}C , ^{14}C y ^{18}F .

35 Los compuestos según la fórmula (I) pueden contener uno o más centros asimétricos (también denominado centro quiral) y pueden, por lo tanto, existir en forma de enantiómeros individuales, diaestereómeros u otras formas estereoisoméricas, o en forma de sus mezclas. Los centros quirales, tales como los átomos de carbono quirales, pueden también estar presentes en un sustituyente como un grupo alquilo. Cuando la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula (I), o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, no se especifica, se pretende que la estructura abarque cualquier estereoisómero y todas sus mezclas. Por lo tanto, los
40 compuestos según la fórmula (I) que contienen uno o más centros quirales pueden usarse como mezclas racémicas, mezclas enriquecidas enantioméricamente o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros.

45 Los estereoisómeros individuales de un compuesto según la fórmula (I) que contienen uno o más centros asimétricos pueden resolverse mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, dicha resolución puede llevarse a cabo mediante (1) formación de sales diastereoisoméricas, complejos u otros derivados; (2) reacción selectiva con un reactivo específico del estereoisómero, por ejemplo mediante oxidación o reducción enzimática; o (3) mediante cromatografía de gas-líquido o de líquido en un ambiente quiral, por ejemplo sobre un soporte quiral, tal como sílice, con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. El experto apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química mediante uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, se requiere una etapa adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, se pueden sintetizar estereoisómeros específicos mediante síntesis asimétrica usando
50 reactivos, sustratos, catalizadores o disolvente ópticamente activos, o mediante conversión de un enantiómero en el otro mediante transformación asimétrica.

55 Los compuestos según la fórmula (I) pueden también contener centros de asimetría geométrica. Cuando la estereoquímica de un centro de asimetría geométrica presente en la fórmula (I), o en cualquier estructura química ilustrada en la presente memoria, no se especifica, se pretende que la estructura abarque el isómero geométrico cis, y todas sus mezclas. Asimismo, todas las formas tautoméricas también están incluidas en la fórmula (I) bien existan dichos tautómeros en equilibrio o bien predominantemente en una forma.

Debe entenderse que todas las referencias en el presente documento a los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos abarcan los compuestos de fórmula (I) como ácidos libres o bases libres, o como sales de los mismos, por ejemplo en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en forma del ácido libre o de la base libre. En otra realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sus sales. En otra realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El experto apreciará que se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos según la fórmula (I). De hecho, en determinadas realizaciones de la invención, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos según la fórmula (I) pueden ser preferentes con respecto a la base libre o al ácido libre respectivos porque dichas sales pueden impartir mayor estabilidad o solubilidad a la molécula, facilitando, por lo tanto, la formulación en una forma de dosificación. En consecuencia, la invención se refiere también a compuestos de fórmula (I) y a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto objeto y que muestran efectos toxicológicos no deseados mínimos. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del compuesto, o mediante reacción por separado del compuesto purificado en su forma de ácido libre o de base libre con una base o un ácido adecuado, respectivamente.

Las sales y solvatos que tienen contraiones o disolventes asociados no farmacéuticamente aceptables están dentro del ámbito de la presente invención, por ejemplo para su uso como productos intermedios en la preparación de otros compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables. Por lo tanto, una realización de la invención abarca compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

En determinadas realizaciones, los compuestos según la fórmula (I) pueden contener un grupo funcional ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales de dichos grupos funcionales ácidos. Las sales representativas incluyen sales de metales farmacéuticamente aceptables tales como sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, aluminio y cinc; carbonatos y bicarbonatos de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, tal como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, aluminio y cinc; aminas orgánicas primarias, secundarias y terciarias farmacéuticamente aceptables, aminas aromáticas, diaminas alifáticas e hidroxialquilaminas, tales como metilamina, etilamina, 2-hidroxietilamina, dietilamina, TEA, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina y ciclohexilamina.

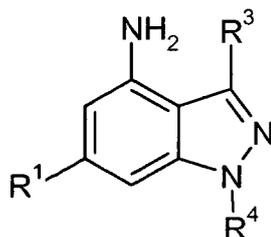
En determinadas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) pueden contener un grupo funcional básico y, por lo tanto, son capaces de formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables mediante tratamiento con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables representativas incluyen clorhidrato, bromhidrato, nitrato, metilnitrato, sulfato, bisulfato, sulfamato, fosfato, acetato, hidroxiacetato, fenilacetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, maleato, hidroximaleato, acrilato, fumarato, malato, tartrato, citrato, salicilato, *p*-aminosalicilato, glicolato, lactato, heptanoato, ftalato, oxalato, succinato, benzoato, *o*-acetoxibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, naftoato, hidroxinaftoato, mandelato, tannato, formiato, estearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutamato, estolato, metanosulfonato (mesilato), etanosulfonato (esilato), 2-hidroxietanosulfonato, bencenosulfonato (besilato), *p*-aminobencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato (tosilato) y naftaleno-2-sulfonato.

Preparación de compuestos

Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante una diversidad de procedimientos, incluida la química estándar. Toda variable previamente definida continuará teniendo los significados previamente definidos a menos que se indique lo contrario. Más adelante se indican procedimientos sintéticos generales ilustrativos y, después, se preparan compuestos específicos de la invención en la sección Ejemplos.

Procedimiento a

Los compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se han definido anteriormente, o las sales de los mismos, se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (II)

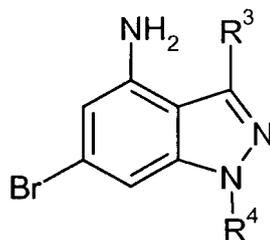


(II)

en la que R^1 , R^3 y R^4 son como se han definido anteriormente, mediante un procedimiento que comprende (i) tratamiento con un ácido de fórmula $R^2\text{COOH}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente o (ii) tratamiento con un cloruro de ácido de fórmula $R^2\text{COCl}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente.

- 5 Las condiciones adecuadas para (i) incluyen agitación en un disolvente adecuado tal como *N,N*-dimetilformamida, a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C, en presencia de un agente de acoplamiento tal como hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, y en presencia de una base adecuada tal como *N,N*-diisopropiletilamina. Alternativamente, (ii) puede llevarse a cabo mediante tratamiento con un agente acilante tal como un cloruro de ácido, en un disolvente adecuado tal como diclorometano, en presencia de una base adecuada tal como *N,N*-diisopropiletilamina, y a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C.
- 10

Los compuestos de fórmula (II) en la que R^1 , R^3 y R^4 son como se han definido anteriormente y R^3 es H, pueden prepararse a partir del compuesto de fórmula (III) (que está disponible comercialmente)

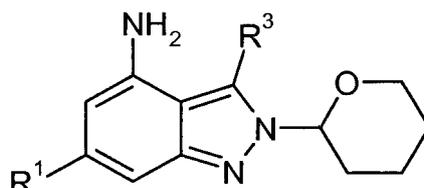


(III)

- 15 en la que R^3 y R^4 son H, mediante tratamiento con un ácido borónico o éster boronato adecuado tal como 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indol (disponible comercialmente), en presencia de un catalizador de paladio adecuado tal como dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio, en un disolvente adecuado tal como una mezcla de 1,4-dioxano y agua, en presencia de una base adecuada tal como carbonato de sodio, y a una temperatura adecuada tal como 60-200 °C, por ejemplo aproximadamente 115 °C. Alternativamente, este proceso
- 20 puede llevarse a cabo con radiación de microondas, a una temperatura adecuada tal como 60-200 °C, por ejemplo aproximadamente 150 °C.

Procedimiento b

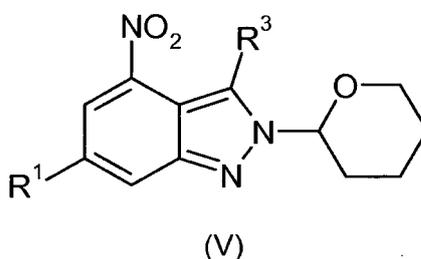
Los compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente y R^4 es H, y las sales de los mismos, se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (IV)



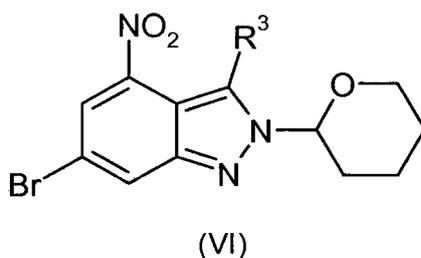
(IV)

25

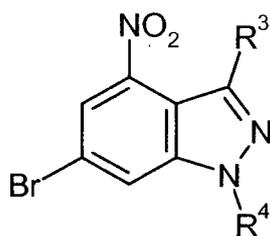
- en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente, mediante un procedimiento que comprende el tratamiento bien con (i) un ácido adecuado de fórmula $R^2\text{COOH}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente, seguido por desprotección usando un ácido adecuado, o bien (ii) un cloruro de ácido de fórmula $R^2\text{COCl}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente, seguido por desprotección usando un ácido adecuado. Las condiciones adecuadas para (i) incluyen agitación en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, ácido 2-metil-1,3-tiazol-4-carboxílico (disponible comercialmente), en un disolvente adecuado tal como *N,N*-dimetilformamida, a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C, en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, y en presencia de una base adecuada tal como *N,N*-diisopropiletilamina, seguido por tratamiento con un ácido adecuado tal como ácido toluenosulfónico macroporoso. Alternativamente, (ii) puede llevarse a cabo mediante acilación con un agente acilante tal como un cloruro de ácido, en un disolvente adecuado tal como diclorometano, en presencia de una base adecuada tal como *N,N*-diisopropiletilamina, y a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente, por ejemplo aproximadamente 20 °C, seguido por tratamiento con un ácido adecuado tal como ácido toluenosulfónico macroporoso.
- Los compuestos de fórmula (IV), en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (V)



- en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente, mediante hidrogenación en un Thales H-Cube[®], en presencia de un catalizador adecuado tal como paladio sobre carbono, en un disolvente adecuado tal como acetato de etilo, a una temperatura adecuada tal como 20-40 °C, por ejemplo aproximadamente 30 °C, y a una presión adecuada tal como 100-5000 kPa, por ejemplo, aproximadamente 3000 kPa
- Los compuestos de fórmula (V), en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (VI)



- en la que R^3 es como se ha definido anteriormente, mediante tratamiento con un ácido borónico adecuado tal como ácido [4-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)fenil]borónico, con radiación de microondas, en presencia de un catalizador de paladio adecuado tal como dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio, en un disolvente adecuado tal como isopropanol, en presencia de una base adecuada tal como hidrogenocarbonato de sodio, y a una temperatura adecuada tal como 60-180 °C, por ejemplo aproximadamente 150 °C.
- Los compuestos de fórmula (VI), en la que R^3 es hidrógeno, pueden prepararse a partir del compuesto de fórmula (VII) (que está disponible comercialmente)



(VII)

en la que R^3 y R^4 son H, mediante tratamiento con 3,4-dihidro-2H-pirano, con un catalizador ácido adecuado tal como *p*-tolueno-sulfonato de piridinio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano y a una temperatura adecuada, tal como temperatura de reflujo.

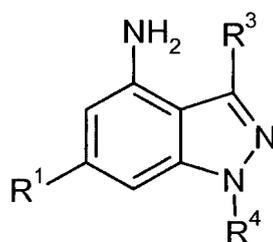
5 **Procedimiento c**

Los compuestos de fórmula (I) en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente y R^4 es H, pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (II) como se ha descrito anteriormente mediante condensación con un anhídrido adecuado tal como benzofurano-1,3-diona, con radiación de microondas, en un disolvente adecuado tal como *N,N*-dimetilformamida, y a una temperatura adecuada tal como entre 60-200 °C, por ejemplo aproximadamente 150 °C. Alternativamente, el procedimiento c puede llevarse a cabo mediante tratamiento de compuestos de fórmula (II) como se ha descrito anteriormente en la que R_4 es H, mediante condensación con un dialdehído adecuado, tal como 1,2-benceno-dicarbaldéhído, en un disolvente adecuado, tal como acetato de etilo, con un catalizador ácido adecuado tal como ácido acético, a una temperatura adecuada tal como entre 20-50 °C, por ejemplo temperatura ambiente.

15 Los compuestos de fórmula (II) en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente y R^4 es H, pueden prepararse a partir del compuesto de fórmula (III) tal como se ha descrito anteriormente

Por lo tanto, en una realización, la invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la invención, que comprende:

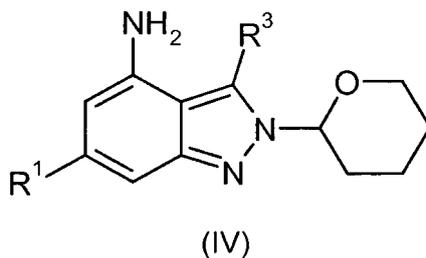
a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II),



(II)

20 en la que R^1 , R^3 y R^4 son como se han definido anteriormente, con (i) un ácido de fórmula $R^2\text{COOH}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente, o (ii) con un cloruro de ácido de fórmula $R^2\text{COCl}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente.

25 b) para un compuesto de fórmula (I), en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente y R^4 es H, o una sal del mismo, hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV)



5 en la que R^1 y R^3 son como se han definido anteriormente, con (i) un ácido adecuado de fórmula $R^2\text{COOH}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente, seguido por desprotección usando un ácido adecuado, o bien (ii) un cloruro de ácido de fórmula $R^2\text{COCl}$, en la que R^2 es como se ha definido anteriormente, seguido por desprotección usando un ácido adecuado, o

c) para un compuesto de fórmula (I), en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente y R^4 es H, o una sal del mismo, condensar un compuesto de fórmula (II) como se ha descrito anteriormente con un anhídrido adecuado.

Procedimientos de uso

10 Los compuestos de la invención son inhibidores de la actividad de PI3-quinasa. Los compuestos que son inhibidores de la PI3-quinasa pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos en los que la patología subyacente es atribuible (al menos en parte) a una actividad de PI3-quinasa inadecuada, tal como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). "Actividad inadecuada de PI3-quinasa" se refiere a cualquier actividad PI3-quinasa que se desvía de la actividad PI3-quinasa normal prevista en un paciente concreto. La actividad inadecuada de PI3-quinasa puede tomar la forma de, por ejemplo, un aumento anormal de la actividad o una aberración en la adecuación temporal y/o el control de la actividad de PI3-quinasa. Tal actividad inadecuada puede ser consecuencia de, por ejemplo, sobreexpresión o mutación de la proteína quinasa que conduce a una activación inadecuada o incontrolada.

20 Dichos trastornos incluyen enfermedades respiratorias, incluidas asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); enfermedades alérgicas, incluidas la rinitis alérgica y la dermatitis atópica; enfermedades autoinmunitarias, incluidas la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple; trastornos inflamatorios, incluida la enfermedad intestinal inflamatoria; enfermedades cardiovasculares, incluidas la trombosis y la aterosclerosis; neoplasias hematológicas; fibrosis quística; enfermedades neurodegenerativas; pancreatitis; insuficiencia multiorgánica; enfermedades renales; agregación plaquetaria; cáncer; motilidad del esperma; rechazo de trasplante; rechazo de injerto; lesiones pulmonares; y dolor, incluidos el dolor asociado con la artritis reumatoide o con la osteoartritis, dolor de espalda, dolor inflamatorio general, neuralgia posthepática, neuropatía diabética, dolor neuropático inflamatorio (traumatismo), neuralgia del trigémino y dolor central.

30 Los compuestos de la invención pueden usarse administrando una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente con necesidad de ello. Realizaciones individuales de la invención incluyen compuestos para su uso en el tratamiento de uno cualquiera de los trastornos mencionados anteriormente mediante la administración de una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente con necesidad de ello.

35 Como se usa en el presente documento, "tratar", en referencia a un trastorno, significa: (1) aliviar o prevenir el trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (2) interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce o responsable del trastorno o (b) una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con el trastorno, o (4) ralentizar la progresión del trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno.

40 Como se ha indicado anteriormente, "tratamiento" de un trastorno incluye la prevención del trastorno. El experto apreciará que "prevención" no es un término absoluto. En medicina, se entiende que "prevención" se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de un trastorno o manifestación biológica del mismo o para retrasar el inicio de dicho trastorno o manifestación biológica del mismo.

45 Como se usa en el presente documento, "cantidad segura y eficaz" en referencia a un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo u otro agente farmacéuticamente activo significa una cantidad del compuesto suficiente para tratar la afección del paciente, pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (a una proporción beneficios/riesgos razonable) dentro del ámbito del juicio médico. Una cantidad segura y eficaz de un compuesto variará con el compuesto concreto escogido (por ejemplo, considerar la potencia, eficacia y semivida del compuesto); la vía de administración escogida; el trastorno que se está tratando; la

gravedad del trastorno que se está tratando; la edad, el tamaño, el peso y la condición física del paciente que se está tratando; la historia clínica del paciente que se va a tratar; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares, que, no obstante, un experto podrá determinar de forma rutinaria.

- 5 Como se usa en el presente documento, "paciente" se refiere a un ser humano (incluidos adultos y niños) o a otro animal. En una realización, "paciente" se refiere a un ser humano.

Los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden administrarse por cualquier vía de administración adecuada, incluida la administración sistémica y la administración tópica. La administración sistémica incluye administración oral, administración parenteral, administración transdérmica y administración rectal.

- 10 La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas a la enteral o la transdérmica, y normalmente se realiza mediante inyección o infusión. La administración parenteral incluye la inyección o infusión intravenosa, intramuscular y subcutánea. La administración tópica incluye la aplicación en la piel, además de la administración intraocular, ótica, intravaginal, inhalada e intranasal. Inhalación se refiere a la administración en los pulmones del paciente, ya sea inhalada a través de la boca o a través de las vías nasales. En una realización, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden administrarse por vía oral. En otra realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden administrarse mediante inhalación. En otra realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden administrarse por vía intranasal. Preferentemente, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran mediante inhalación.

- 20 Los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden administrarse una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que una serie de dosis se administran a intervalos variables de tiempo durante un periodo de tiempo dado. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una, dos, tres o cuatro veces al día. En una realización, una dosis se administra una vez al día. En otra realización, una dosis se administra dos veces al día. Las dosis se pueden administrar hasta que se alcanza el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para mantener el efecto terapéutico deseado. Los regímenes de dosificación adecuados para un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable dependen de las propiedades farmacocinéticas de dicho compuesto, tales como absorción, distribución y semivida, que pueden ser determinadas por el experto en la técnica. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluida la duración de administración de dichos regímenes, para un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependen del trastorno que se está tratando, la gravedad del trastorno que se está tratando; la edad y la condición física del paciente que se está tratando; el historial clínico del paciente que se va a tratar; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares dentro del conocimiento y experiencia del experto. Además, los expertos entenderán que los regímenes de dosificación adecuados pueden requerir ajustes según la respuesta individual del paciente al régimen de dosificación o con el transcurso del tiempo a medida que un paciente individual necesita un cambio.

Las dosificaciones diarias típicas pueden variar en función de la vía de administración concreta elegida. Las dosificaciones diarias típicas para administración oral varían de 0,001 mg a 50 mg por kg de peso corporal total, por ejemplo de 1 mg a 10 mg por kg de peso corporal total. Por ejemplo, las dosificaciones diarias para administración oral pueden ser de 0,5 mg a 2 g por paciente, tal como de 10 mg a 1 g por paciente.

- 40 Por lo tanto, la invención proporciona compuestos para tratar un trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinasa, mediante la administración de una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente con necesidad de ello.

- 45 En una realización, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PI3-quinasa se selecciona del grupo que consiste en enfermedades respiratorias (incluidas asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)); enfermedades alérgicas (incluidas la rinitis alérgica y la dermatitis atópica); enfermedades autoinmunitarias (incluidas la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple); trastornos inflamatorios (incluida la enfermedad intestinal inflamatoria); enfermedades cardiovasculares (incluidas la trombosis y la aterosclerosis); neoplasias hematológicas; fibrosis quística; enfermedades neurodegenerativas; pancreatitis; insuficiencia multiorgánica; enfermedades renales; agregación plaquetaria; cáncer; motilidad del esperma; rechazo de transplante; rechazo de injerto; lesiones pulmonares; y dolor (incluidos el dolor asociado con la artritis reumatoide o con la osteoartritis, dolor de espalda, dolor inflamatorio general, neuralgia posthepática, neuropatía diabética, dolor neuropático inflamatorio (traumatismo), neuralgia del trigémino y dolor central).

- 55 En una realización, el trastorno mediado por una actividad inadecuada de la P3-quinasa es una enfermedad respiratoria. En otra realización, el trastorno mediado por una actividad inadecuada de la P3-quinasa es asma. En otra realización, el trastorno mediado por una actividad inadecuada de la PI3-quinasa es enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

En una realización, el trastorno mediado por una actividad inadecuada de la PI3-quinasa es dolor.

En una realización, la invención también proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia médica. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinasa. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinasa.

Composiciones

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables normalmente, aunque no necesariamente, se formularán en composiciones farmacéuticas antes de su administración a un paciente. En consecuencia, en otro aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar y envasar a granel, de las que se puede extraer una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y, después, administrarla al paciente con, por ejemplo, polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar y envasar en forma de dosificación unitaria en la que cada unidad físicamente diferenciada contiene un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se preparan en forma de dosificación unitaria, las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente pueden contener, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, o de 1 mg a 700 mg o de 5 mg a 100 mg de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente contienen un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se usa en el presente documento, "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable implicado en dar forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente debe ser compatible con otros ingredientes de la composición farmacéutica cuando se mezcla, de modo que se eviten interacciones que reducirían sustancialmente la eficacia del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo cuando se administra a un paciente, e interacciones que se producirían en composiciones farmacéuticas que no son farmacéuticamente aceptables. Además, por supuesto, cada excipiente debe ser farmacéuticamente aceptable, por ejemplo con la pureza suficientemente alta.

Normalmente, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables se formularán en una forma de dosificación adaptada para la administración al paciente usando la vía de administración deseada. Por ejemplo, las formas de dosificación incluyen las adaptadas para (1) administración oral, tales como comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, sellos y obleas; (2) administración parenteral, tal como soluciones, suspensiones y polvos estériles para reconstitución; (3) administración transdérmica, tal como parches transdérmicos; (4) administración rectal, tales como supositorios; (5) inhalación, tales como aerosoles, soluciones y polvos secos; y (6) administración tópica, tales como cremas, ungüentos, lociones, soluciones, pastas, pulverizaciones, espumas y geles.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados variarán en función de la forma de dosificación concreta escogida. Además, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados pueden escogerse para una función concreta para la que pueden servir en la composición. Por ejemplo, determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden escogerse por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación uniformes. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden escogerse por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación estables. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden escogerse por su capacidad para facilitar el transporte del compuesto o compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables una vez que se han administrado al paciente desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden escogerse por su capacidad para potenciar el cumplimiento por parte del paciente.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, deslizantes, agentes de granulación, agentes de revestimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, aromatizantes, agentes enmascaradores de sabor, agentes colorantes, agentes antiaglutinantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes que aumentan la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos y agentes tampón. El experto apreciará que determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden servir para más de una función y pueden servir para funciones alternativas en función de la cantidad del excipiente que está presente en la formulación y de cuales otros excipientes están presentes en la formulación.

Los expertos poseen los conocimientos y la experiencia en la técnica que les permite seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados en cantidades adecuadas para usar en la invención. Además, existe una serie de recursos disponibles que describen los excipientes farmacéuticamente aceptables y que pueden ser útiles a

la hora de seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Entre los ejemplos se incluyen el Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), y el The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

- 5 Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan usando técnicas y procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Algunos de los procedimientos de uso habitual en la técnica se describen en el Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

En consecuencia, en otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que comprende mezclar los ingredientes. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede prepararse mediante, por ejemplo, mezclado a temperatura ambiente y a presión atmosférica.

En una realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables se formularán para su administración por vía oral. En otra realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables se formularán para su administración por inhalación. En otra realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables se formularán para su administración por vía intranasal. Preferentemente, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables se formularán para su administración por inhalación.

En un aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación de uso oral sólida, tal como un comprimido o cápsula, que comprende una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un diluyente o carga. Entre los diluyentes y cargas adecuados se incluyen lactosa, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina), sulfato de calcio y fosfato de calcio dibásico. La forma de dosificación sólida para uso oral puede además comprender un aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), gelatina, goma arábiga, alginato sódico, ácido algínico, goma tragacanto, goma guar, povidona y celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina). La forma de dosificación sólida para uso oral puede además comprender un disgregante. Entre los disgregantes adecuados se incluyen crospovidona, almidón glicolato de sodio, croscarmelosa, ácido algínico y carboximetilcelulosa sódica. La forma de dosificación sólida para uso oral puede además comprender un lubricante. Entre los lubricantes adecuados se incluyen ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de calcio y talco.

Cuando sea apropiado, se pueden encapsular las formulaciones de dosificación unitaria para administración oral. La composición también puede prepararse para prolongar o mantener la liberación como, por ejemplo, recubriendo o embebiendo el material en forma de partículas en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden acoplarse también con polímeros solubles como vehículos de fármacos diana. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilaspirtamidafenol o poli(óxido de etileno)polilisina sustituido con restos palmitoilo. Además, los compuestos fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden también acoplarse con una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo ácido poliláctico, poliepsilon caprolactona, ácido polihidroxitúterico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque de hidrogeles anfipáticos o reticulados.

En otro aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación líquida de uso oral. Los líquidos de uso oral, tales como soluciones, jarabes y elixires, se pueden preparar en forma de dosis unitarias de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los jarabes se pueden preparar mediante disolución del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular mediante dispersión del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno-sorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

En otro aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación adaptada para administrar a un paciente mediante inhalación, por ejemplo en forma de una composición en polvo seco, en un aerosol, en una suspensión, o en una solución. Preferentemente, la invención se refiere también a composiciones en polvo adaptadas para inhalación que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Normalmente, las composiciones en polvo seco para la administración al pulmón mediante inhalación comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en forma de un polvo finamente dividido junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables en forma de polvos finamente divididos. Los

5 expertos en la técnica conocen los excipientes farmacéuticamente aceptables particularmente adecuados para su uso en polvos secos e incluyen lactosa, almidón, manitol y mono-, di- y polisacáridos. El polvo finamente dividido puede prepararse mediante, por ejemplo, micronización y molido. Generalmente, el compuesto de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) se puede definir por un valor de D_{50} de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

10 El polvo seco se puede administrar al paciente mediante un inhalador en polvo seco con depósito (RDPI) que tiene un depósito adecuado para almacenar múltiples dosis (dosis no medidas) de medicamento en forma de polvo seco. Normalmente, los RDPI incluyen un medio para dosificar cada dosis de medicamento desde el depósito hasta una posición de liberación. Por ejemplo, el medio de dosificación puede comprender una taza de dosificación, que se puede mover desde una primera posición en la que la taza puede llenarse con el medicamento desde el depósito hasta una segunda posición, en la que la dosis medida de medicamento queda disponible para su inhalación por el paciente.

15 Como alternativa, el polvo seco se puede presentar en cápsulas (por ejemplo, gelatina o plástico), cartuchos o envases alveolados, para su uso en un inhalador de polvo seco de múltiples dosis (MDPI). Los MDPI son inhaladores en los que el medicamento está dentro de un envase de múltiples dosis que contiene (o, de otro modo, que porta) múltiples dosis definidas (o partes de las mismas) de medicamento. Cuando el polvo seco se presenta en forma de envase alveolado, este comprende múltiples cavidades para contener el medicamento en forma de polvo seco. Normalmente, las cavidades del envase alveolado se disponen de forma regular para una fácil liberación del medicamento desde las mismas. Por ejemplo, las cavidades del envase alveolado se pueden disponer de un modo
20 generalmente circular en un envase alveolado en forma de disco, o las cavidades del envase alveolado pueden tener forma alargada que comprenden, por ejemplo, una tira o una cinta. Cada cápsula, cartucho o cavidad del envase blíster puede contener, por ejemplo, entre 20 μg -10 mg del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Los aerosoles pueden formarse mediante suspensión o disolución de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un propulsor licuado. Entre los propulsores adecuados se incluyen halocarbonos, hidrocarbonos y otros gases licuados. Entre los propulsores representativos se incluyen: triclorofluorometano (propulsor 11), diclorofluorometano (propulsor 12), diclorotetrafluoroetano (propulsor 114), tetrafluoroetano (HFA-134a), 1,1-difluoroetano (HFA-152a), difluorometano (HFA-32), pentafluoroetano (HFA-12), heptafluoropropano (HFA-227a), perfluoropropano, perfluorobutano, perfluoropentano, butano, isobutano y pentano.
30 Normalmente, los aerosoles que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable se administrarán a un paciente a través de un inhalador de dosis medida (MDI). Dichos dispositivos son bien conocidos para los expertos en la técnica.

35 El aerosol puede contener excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales de uso habitual con los MDI, tales como tensioactivos, lubricantes, codisolventes y otros excipientes para mejorar la estabilidad física de la formulación, para mejorar el funcionamiento de la válvula, para mejorar la solubilidad o para mejorar el gusto.

Por lo tanto, como otro aspecto de la invención se proporciona una formulación en aerosol farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, como propulsor, un fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno, opcionalmente en combinación con un tensioactivo y/o un codisolvente.

40 Según otro aspecto de la invención, se proporciona una formulación farmacéutica en aerosol, en la que el propulsor se selecciona de 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano y mezclas de ambos.

Las formulaciones de la invención se pueden tamponar mediante la adición de agentes tampón adecuados.

45 Pueden formularse cápsulas y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador de, por ejemplo, gelatina, de modo que contengan una mezcla en polvo para la inhalación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una base en polvo adecuada, tal como lactosa o almidón. Generalmente, cada cápsula o cartucho puede contener de 20 μg a 10 mg del compuesto de fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Como alternativa, el compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable, puede presentarse sin excipientes como, por ejemplo, lactosa.

50 La proporción del compuesto activo de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable en las composiciones de uso local según la invención depende del tipo exacto de formulación que se debe preparar, pero, generalmente, se encontrará dentro del intervalo del 0,001 al 10 % en peso. Generalmente, para la mayoría de los tipos de preparaciones, la proporción usada se encontrará dentro del intervalo del 0,005 al 1 %, por ejemplo del 0,01 al 0,5 %. No obstante, en polvos para inhalación o insuflación, la proporción usada se encontrará, normalmente, dentro del intervalo del 0,1 al 5 %.

55 Las formulaciones en aerosol se disponen preferentemente de modo que cada dosis medida o cada "bocanada" de aerosol contenga de 20 μg a 10 mg, preferentemente de 20 μg a 2000 μg , más preferentemente de 20 μg a 500 μg de un compuesto de fórmula (I). Se puede administrar una vez al día o varias veces al día, por ejemplo 2, 3, 4 u 8 veces, administrándose, por ejemplo, 1, 2 o 3 dosis cada vez. La dosis diaria total con un aerosol estará dentro del

intervalo de 100 µg a 10 mg, preferentemente de 200 µg a 2000 µg. La dosis diaria total y la dosis medida administrada mediante cápsulas y cartuchos en un inhalador o insuflador será generalmente el doble que la administrada con formulaciones en aerosol.

5 En el caso de las formulaciones de aerosol en suspensión, el tamaño de partícula del fármaco en partículas (por ejemplo, micronizado) debería ser tal que permita la inhalación de sustancialmente todo el fármaco en los pulmones tras la administración de la formulación en aerosol y, por lo tanto, será inferior a 100 micrómetros, deseablemente inferior a 20 micrómetros y, en particular, estará en el intervalo de 1 a 10 micrómetros, tal como de 1 a 5 micrómetros, más preferentemente de 2 a 3 micrómetros.

10 Las formulaciones de la invención se pueden preparar mediante dispersión o disolución del medicamento y un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el propulsor seleccionado en un envase adecuado usando, por ejemplo, sonicación o un mezclador de alta cizalladura. De forma deseable, el procedimiento se lleva a cabo en condiciones de humedad controlada.

15 La estabilidad química y física y la aceptabilidad farmacéutica de las formulaciones en aerosol según la invención se pueden determinar mediante bien técnicas conocidas para los expertos en la técnica. Por lo tanto, por ejemplo, la estabilidad química de los componentes puede determinarse mediante ensayo HPLC, por ejemplo después de un almacenamiento prolongado del producto. Los datos de estabilidad física pueden obtenerse mediante otras técnicas analíticas convencionales, tales como, por ejemplo, prueba de fugas, ensayo de liberación de válvulas (peso medio de la descarga por pulsación), mediante el ensayo de la reproducibilidad de la dosis (ingrediente activo por pulsación) y análisis de distribución de pulverización.

20 La estabilidad de las formulaciones de aerosol en suspensión según la invención puede medirse mediante técnicas convencionales, por ejemplo midiendo la distribución del tamaño por floculación usando un instrumento de retrodispersión lumínica o midiendo la distribución del tamaño de la partícula mediante impacto por cascada o a través del procedimiento analítico "twin impinger". Como se usa en el presente documento, la referencia al ensayo "twin impinger" significa "Determinación del depósito de la dosis emitida en inhalaciones presurizadas usando el aparato A" como se define en la Farmacopea Británica 1988, páginas A204-207, Apéndice XVII C. Dichas técnicas permiten calcular la "fracción respirable" de las formulaciones en aerosol. Un procedimiento usado para calcular la "fracción respirable" es por referencia a la "fracción de partícula fina", que es la cantidad de ingrediente activo recogido en la cámara inferior de choque por pulsación expresada en forma de un porcentaje de la cantidad total de ingrediente activo liberado por pulsación usando el procedimiento "twin impinger" descrito anteriormente.

30 La expresión "inhalador de dosis medida" o MDI quiere decir una unidad que comprende un bote, una tapa asegurada que cubre el bote y una válvula dosificadora de la formulación situada en la tapa. El sistema de MDI incluye un dispositivo de tunelación adecuado. Los dispositivos de tunelación adecuados comprenden, por ejemplo, un accionador de válvula y un paso cilíndrico o de tipo cono a través del cual el medicamento se puede liberar a partir del recipiente cargado mediante la válvula dosificadora en la nariz o la boca de un paciente, tal como un accionador de boquilla.

35 Generalmente, los envases de MDI comprenden un envase capaz de resistir la presión de vapor del propulsor usado, tal como un frasco de plástico o de cristal recubierto con plástico o, preferentemente, un bote de metal, por ejemplo de aluminio o de una aleación del mismo que, opcionalmente, puede anodizarse, recubrirse con laca y/o recubrirse con plástico (por ejemplo el documento WO96/32099, en el que parte de las superficies internas, o todas, están revestidas con uno o más polímeros de fluorocarbono opcionalmente en combinación con uno o más polímeros que no son de fluorocarbono), en el que el envase está cerrado con una válvula dosificadora. La tapa puede fijarse sobre el bote a través de soldeo ultrasónico, con cierre de rosca o enroscado. Los MDI enseñados en el presente documento se pueden preparar mediante los procedimientos de la técnica (por ejemplo, véase Byron, anteriormente, y el documento WO96/32099). Preferentemente, el envase está equipado con un ensamblaje de tapa, en la que se coloca una válvula dosificadora del fármaco en la tapa y dicha tapa se enrosca en su lugar.

40 En una realización de la invención, la superficie interna metálica del bote está revestida con un fluoropolímero, más preferentemente mezclado con un compuesto que no es un fluoropolímero. En otra realización de la invención, la superficie interna metálica del bote está revestida con una mezcla de polímeros de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES). En otra realización de la invención, la totalidad de la superficie interna metálica del bote está revestida con una mezcla de polímeros de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES).

45 Las válvulas dosificadoras están diseñadas para liberar una cantidad medida de la formulación por pulsación e incorporan una junta para prevenir pérdidas de propulsor a través de la válvula. La junta puede comprender cualquier material elastomérico adecuado, tal como, por ejemplo, polietileno de baja densidad, clorobutilo, bromobutilo, EPDM, cauchos de butadieno-acrilonitrilo blanco y negro, caucho de butilo y neopreno. Las válvulas adecuadas están disponibles comercialmente en fabricantes bien conocidos en la industria de los aerosoles, por ejemplo en Valois, Francia (por ejemplo, DF10, DF30, DF60), Bepak plc, Reino Unido (por ejemplo, BK300, BK357) y 3M-Neotech Ltd, Reino Unido (por ejemplo, Spraymiser[™]).

En diversas realizaciones, los MDI también pueden usarse junto con otras estructuras, tales como, sin limitaciones, envases con sobreenvoltura para almacenar y contener los MDI, incluidos los descritos en las patentes de Estados Unidos Nº 6.119.853; 6.179.118; 6.315.112; 6.352.152; 6.390.291 y 6.679.374, así como unidades de recuento de dosis, tales como, sin limitación, las descritas en las patentes de Estados Unidos Nº. 6.360.739 y 6.431.168.

- 5 Para la preparación de lotes a gran escala para la producción comercial de envases cargados se pueden usar procedimientos de fabricación a granel y maquinaria convencionales bien conocidas para los expertos en la técnica de la fabricación de aerosoles farmacéuticos. Por lo tanto, por ejemplo, en un procedimiento de fabricación a granel para preparar formulaciones de aerosol en suspensión se enrolla una válvula dosificadora sobre un bote de aluminio para formar un bote vacío. El medicamento en partículas se añade a un recipiente de carga y el propulsor licuado, junto con los excipientes opcionales, se carga a presión a través del recipiente de carga al interior de un recipiente de fabricación. La suspensión de fármaco se mezcla antes de recircular en una máquina de llenado y, después, se carga el bote con una parte alícuota de la suspensión de fármaco a través de la válvula dosificadora. En un ejemplo de un procedimiento de fabricación a granel para preparar formulaciones de aerosol en solución se enrosca una válvula dosificadora sobre un bote de aluminio para formar un bote vacío. El propulsor licuado, junto con los excipientes opcionales y el medicamento disuelto, se carga a presión en un recipiente de fabricación a través del recipiente de carga.

En un procedimiento alternativo, una parte alícuota de la formulación licuada se añade a un bote abierto en condiciones lo suficientemente frías como para garantizar que la formulación no se vaporice y, después, se enrosca una válvula dosificadora sobre el bote.

- 20 Normalmente, en lotes preparados para uso farmacéutico, se comprueba el peso de cada bote cargado, se codifica con un número de lote y se envasa en una bandeja para su almacenamiento antes de la prueba de liberación.

Las suspensiones y soluciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo también se pueden administrar a un paciente a través de un nebulizador. El disolvente o el agente de suspensión usado para la nebulización puede ser cualquier líquido farmacéuticamente aceptable, tal como agua, solución salina acuosa, alcoholes o glicoles, por ejemplo etanol, alcohol isopropílico, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, etc., o mezclas de los mismos. Las soluciones salinas usan sales que muestran muy poca o ninguna actividad farmacológica tras la administración. Para este fin se pueden usar sales orgánicas, tales como sales de metal alcalino o de halógeno amónico, por ejemplo cloruro sódico, cloruro potásico, o sales orgánicas, tales como sales de potasio, de sodio y de amonio, o ácidos orgánicos, por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, etc.

Se pueden añadir otros excipientes farmacéuticamente aceptables a la suspensión o a la solución. El compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable se puede estabilizar mediante la adición de un ácido inorgánico, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y/o ácido fosfórico; un ácido orgánico, por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético y ácido tartárico, etc., un agente de formación de complejos, tal como EDTA o ácido cítrico y sus sales; o un antioxidante, tal como antioxidante tal como la vitamina E o ácido ascórbico. Estos se pueden usar solos o juntos para estabilizar el compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable. Se pueden añadir conservantes, tales como cloruro de benzalconio o ácido benzoico y sus sales. Se puede añadir un tensioactivo, particularmente para mejorar la estabilidad física de las suspensiones. Estos incluyen lecitina, dioctilsulfosuccinato disódico, ácido oleico y ésteres de sorbitano.

- 40 En otro aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación adaptada para administración intranasal.

Las formulaciones para administrar en la nariz incluyen formulaciones en aerosol presurizadas y formulaciones acuosas administradas en la nariz mediante bomba presurizada. Las formulaciones que no están presurizadas ni adaptadas para su administración tópica en la cavidad nasal son de particular interés. Las formulaciones adecuadas contienen agua como diluyente o vehículo para este fin. Las formulaciones acuosas para administrar en los pulmones o la nariz se pueden proporcionar con excipientes convencionales, tales como agentes tampón, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las formulaciones acuosas también se pueden administrar en la nariz mediante nebulización.

Los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden formularse en forma de una formulación fluida para su liberación desde un dispensador de fluidos, por ejemplo un dispensador de fluidos que tiene una boquilla dispensadora u orificio dispensador a través del que se dispensa una dosis medida de la formulación fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario sobre un mecanismo de bomba del dispensador del fluido. Generalmente, estos dispensadores de fluido se proporcionan con un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, pudiéndose dispensar las dosis mediante pulsaciones secuenciales de la bomba. La boquilla u orificio dispensador se puede configurar para su inserción en las fosas nasales del usuario para la pulverización de la formulación fluida en la cavidad nasal. Un dispensador de fluidos del tipo mencionado anteriormente se describe y se ilustra en el documento WO05/044354. El dispensador tiene una carcasa que aloja un dispositivo de descarga de fluidos que tiene una bomba de compresión montada sobre un contenedor que contiene una formulación fluida. La carcasa tiene al menos una palanca que se puede accionar con un dedo, que se mueve hacia dentro con respecto a la carcasa para empujar el contenedor hacia arriba y el interior de la carcasa con

el fin de comprimir la bomba de modo que bombee una dosis medida de la formulación hacia fuera del tronco de la bomba a través de una boquilla nasal de la carcasa. En una realización, el dispensador de fluidos es del tipo general ilustrado en las figures 30-40 del documento WO05/044354.

5 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración intranasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo áspero que tiene un tamaño de partícula e el intervalo de, por ejemplo, 20 a 500 micrómetros, que se administra mediante inhalación rápida a través de las vías nasales desde un contenedor de polvo que se mantiene cerca de la nariz. Las composiciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para su administración como pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos, que se pretende que permanezcan en contacto íntimo con la epidermis del paciente durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede administrar a partir del parche por iontoforesis como se describe generalmente en *Pharmaceutical Research*, 3 (6), 318 (1986).

15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse en forma de ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizadores, aerosoles o aceites.

20 Los ungüentos, cremas y geles pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de un agente espesante y/o gelificante adecuado y/o disolventes. Por lo tanto, dichas bases pueden incluir agua y/o un aceite, tal como parafina líquida o un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete o aceite de ricino, o un disolvente tal como polietilenglicol. Agentes espesantes y agentes de gelificación que se pueden usar de acuerdo con la naturaleza de la base incluyen parafina blanda, estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, lanolina, cera de abeja, carboxipolimetileno y derivados de celulosa, y/o monoestearato de glicerilo y/o agentes emulsionantes no iónicos.

25 Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes de dispersión, agentes de suspensión o agentes espesantes.

Se pueden formar polvos para aplicación externa con la ayuda de cualquier base en polvo adecuada, por ejemplo talco, lactosa o almidón. Las gotas se pueden formular con una base acuosa o no acuosa que también comprenden uno o más agentes de dispersión, agentes de solubilización, agentes de suspensión o conservantes.

30 Las preparaciones de uso tópico se pueden administrar mediante una o más aplicaciones al día en el área afectada; de forma ventajosa se pueden usar apósitos oclusivos sobre las áreas de piel. Se pueden conseguir una administración continua o prolongada mediante un sistema de depósito adhesivo.

35 Para los tratamientos oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las composiciones pueden aplicarse en forma de un ungüento o crema tópicos. Cuando se formula en un ungüento, el compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable se puede usar con una base de ungüento parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

40 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacterioestáticos y solutos, que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en envases de monodosis o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en estado liofilizado que requiera únicamente la adición de vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyectables, antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección improvisada pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

45 El compuesto y las formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden usar en combinación con otros agentes terapéuticos, o incluir uno o más de ellos, seleccionados de, por ejemplo, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos (particularmente un antagonista del receptor $M_1/M_2/M_3$), agonistas del receptor β_2 -adrenérgico, agentes antiinfecciosos, tales como antibióticos o agentes antivíricos, o antihistamínicos. Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable junto con uno o más agentes terapéuticamente activos distintos seleccionados de, por ejemplo, un agente antiinflamatorio, tal como un corticosteroide o un AINE, un agente anticolinérgico, un agonista del receptor β_2 -adrenérgico, un agente antiinfeccioso, tales como un antibiótico o un agente antivírico, o un antihistamínico. Una realización de la invención abarca combinaciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable junto con un agonista del receptor β_2 -adrenérgico y/o un agente anticolinérgico y/o un inhibidor de la PDE-4 y/o un antihistamínico.

Determinados compuestos de la invención pueden mostrar selectividad por PI3K δ sobre otras quinasas. Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo, que es selectivo para PI3K δ con un compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable que es selectivo para otra PI3-quinasa, por ejemplo para PI3Ky.

Una realización de la invención abarca combinaciones que comprenden uno o dos agentes terapéuticos distintos.

5 Para un experto en la técnica, quedará claro, cuando sea adecuado, que el otro o los otros ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma de sales, por ejemplo en forma de sales de metal alcalino o amina o en forma de sales de adición de ácido, o como solvatos, por ejemplo hidratos para optimizar la actividad y/o la estabilidad y/o las características físicas, tales como la solubilidad, del ingrediente terapéutico. También quedará claro que, cuando sea adecuado, los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

10 En una realización, la invención abarca una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista del receptor β_2 -adrenérgico.

15 Ejemplos de agonistas del receptor β_2 -adrenérgico incluyen salmeterol (que puede ser un racemato o un enantiómero sencillo, tal como el enantiómero *R*), salbutamol (que puede ser un racemato o un enantiómero sencillo, tal como el enantiómero *R*), formoterol (que puede ser un racemato o un diaestereómero sencillo, tal como el diaestereómero *R,R*), salmefamol, fenoterol, carmoterol, etanterol, naminterol, clenbuterol, pirbuterol, flerbuterol, reproterol, bambuterol, indacaterol, terbutalina y sus sales, por ejemplo la sal xinafoato (1-hidroxi-2-naftalenocarboxilato) de salmeterol, la sal sulfato o la base libre de salbutamol o la sal fumarato de formoterol. En una realización, son preferentes los agonistas del receptor β_2 -adrenérgico de acción prolongada, por ejemplo compuestos que proporcionan broncodilatación eficaz durante aproximadamente 12 horas o más.

20 Otros agonistas del receptor β_2 -adrenérgico incluyen los descritos en los documentos WO 02/066422, WO 02/070490, WO 02/076933, WO 03/024439, WO 03/072539, WO 03/091204, WO 04/016578, WO 2004/022547, WO 2004/037807, WO 2004/037773, WO 2004/037768, WO 2004/039762, WO 2004/039766, WO01/42193 y WO03/042160.

Ejemplos de agonistas del receptor β_2 -adrenérgico incluyen:

- 3-((4-{{6-((2*R*)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil)amino}hexil}oxi}butil)benzenosulfonamida;
- 25 3-((3-{{7-((2*R*)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-hidroximetil)fenil]etil)-amino}heptil}oxi}propil)benzenosulfonamida;
- 4-(((1*R*)-2-[(6-{{2-[(2,6-diclorobencil)oxi]etoxi}hexil)amino]-1-hidroxi}etil)-2-(hidroximetil)fenol;
- 4-(((1*R*)-2-[(6-{{4-[[3-(ciclopentilsulfonil)fenil]butoxi}hexil)amino]-1-hidroxi}etil)-2-(hidroximetil)fenol;
- N-2-hidroxi-5-[(1*R*)-1-hidroxi-2-[[2-4-[[2(*R*)-2-hidroxi-2-feniletil]amino]fenil]etil]amino]etil]fenil]formamida;
- N-2{2-[4-(3-fenil-4-metoxifenil)aminofenil]etil}-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2(1*H*)-quinolinon-5-il)etilamina; y
- 30 5-[[*R*]-2-(2-{{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil]-etilamino}-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona.

El agonista del receptor β_2 -adrenérgico puede estar en forma de una sal formada con un ácido farmacéuticamente aceptable seleccionado de ácido sulfúrico, clorhídrico, fumárico, hidroxinaftoico (por ejemplo, 1- o 3-hidroxi-2-naftoico), cinámico, cinámico sustituido, trifenilacético, sulfámico, sulfanílico, naftalenoacrílico, benzoico, 4-metoxibenzoico, 2- o 4-hidroxibenzoico, 4-clorobenzoico y 4-fenilbenzoico.

35 Entre los agentes antiinflamatorios adecuados se incluyen corticosteroides. Los corticosteroides adecuados que pueden usarse en combinación con los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables son los corticosteroides orales e inhalados y sus profármacos que tienen actividad antiinflamatoria. Los ejemplos incluyen metil prednisolona, prednisolona, dexametasona, propionato de fluticasona, éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[[4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil]oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[[2-furanilcarbonil]oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico (furoato de fluticasona), éster de S-2-oxo-tetrahydro-furan-3*S*-il) de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster de S-cianometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -((2,2,3,3-tetrametilciclopropilcarbonil)oxi)-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico y éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -((1-meticiclopropilcarbonil)oxi)-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, ésteres de beclometasona (por ejemplo, el éster 17-propionato o el éster 17,21-dipropionato), budesónida, flunisolida, ésteres de mometasona (por ejemplo, furoato de mometasona), triamcinolona acetónido, rofleponida, ciclesonida (16 α ,17-[[*R*]-ciclohexilmetileno]bis(oxi)]-11 β ,21-dihidroxi-pregna-1,4-dieno-3,20-diona), propionato de butixocort, RPR-106541 y ST-126. Entre los corticosteroides preferidos se incluyen propionato de fluticasona, éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[[4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil]oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[[2-furanilcarbonil]oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster de S-cianometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -((2,2,3,3-tetrameticiclopropilcarbonil)oxi)-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico y éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -((1-meticiclopropilcarbonil)oxi)-

3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiico. En una realización, el corticosteroide es éster de S-fluorometilo de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta1,4-dieno-17 β -carbotoiico.

Los ejemplos de corticosteroides pueden incluir los descritos en los documentos WO2002/088167, WO2002/100879, WO2002/12265, WO2002/12266, WO2005/005451, WO2005/005452, WO2006/072599 y WO2006/072600.

5 Los compuestos no esteroideos que tienen agonismo por glucocorticoides que pueden poseer selectividad por la transrepresión sobre la transactivación y que pueden ser útiles en la terapia de combinación incluyen los abarcados en las siguientes patentes: WO03/082827, WO98/54159, WO04/005229, WO04/009017, WO04/018429, WO03/104195, WO03/082787, WO03/082280, WO03/059899, WO03/101932, WO02/02565, WO01/16128, WO00/66590, WO03/086294, WO04/026248, WO03/061651 y WO03/08277. Otros compuestos no esteroideos se abarcan en los documentos: WO2006/000401, WO2006/000398 y WO2006/015870.

Ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

Entre los ejemplos de los AINE se incluyen cromoglicato sódico, nedocromil sódico, inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (por ejemplo, teofilina, inhibidores de la PDE4 o inhibidores mixtos de PDE3/PDE4), antagonistas de leucotrieno, inhibidores de la síntesis de los leucotrienos (por ejemplo, montelukast), inhibidores de la iNOS, 15 inhibidores de la triptasa y la elastasa, antagonistas de la beta-2 integrina y agonistas o antagonistas del receptor de adenosina (p.ej. agonistas del receptor de adenosina 2a), antagonistas de citocinas (por ejemplo, antagonistas de quimioquina, tales como un antagonista de CCR3) o inhibidores de la síntesis de citocinas o inhibidores de la 5-lipoxigenasa. Preferentemente, un iNOS (inhibidor de la óxido nítrico sintasa inducible) es para la administración oral. Ejemplos de inhibidores de la iNOS incluyen los desvelados en los documentos WO93/13055, WO98/30537, 20 WO02/50021, WO95/34534 y WO99/62875. Ejemplos de inhibidores de CCR3 incluyen los divulgados en el documento WO02/26722.

En una realización, la invención proporciona el uso de los compuestos de fórmula (I) en combinación con un inhibidor de la fosfodiesterasa 4 (PDE4), especialmente en el caso de una formulación adaptada para inhalación. El inhibidor específico de la PDE4 útil en este aspecto de la invención puede ser cualquier compuesto que se sepa que 25 inhibe la enzima PDE4 o que se ha descubierto que actúa como inhibidor de la PDE4 y que sea sólo inhibidor de la PDE4, no compuestos que inhiben otros miembros de la familia de las PDE, tales como la PDE3 y la PDE5, así como la PDE4.

Los compuestos incluyen ácido *cis*-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexano-1-ona y *cis*-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexano-1-ol]. También, el ácido *cis*-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-ciclohexano-1-carboxílico (también conocido como cilomilast) y sus sales, tal como se divulga en el documento US5.552.438.

Otros compuestos incluyen AWD-12-281 de Elbion (Hofgen, N. y col. 15° EFMC Int Symp Med Chem (6-10 de septiembre, Edimburgo) 1998, Resumen P.98; referencia N° CAS 247584020-9); un derivado de 9-benciladenina denominado NCS613 (INSERM); D-4418 de Chiroscience y Schering-Plough; un inhibidor benzodiazepina de la PDE4 identificado como CI-1018 (PD-168787) y atribuido a Pfizer; un derivado de benzodioxol divulgado por Kyowa Hako en el documento WO99/16766; K-34 de Kyowa Hako; V-11294A de Napp (Landells, L.J. y col. Eur Resp J [Annu Cong Eur Resp Soc (19-23 de septiembre, Ginebra) 1998] 1998, 12 (Supl. 28): Resumen P2393); roflumilast (referencia CAS N° 162401-32-3) y una ftalazinona (documento WO99/47505) de Byk-Gulden; Pumafentrina, (-)-p- 40 [(4aR*,10bS*)-9-etoxi-1,2,3,4,4a,10b-hexahidro-8-metoxi-2-metilbenzo[c][1,6]naftiridin-6-il]-N,N-diisopropilbenzamida, que es un inhibidor mixto de PDE3/PDE4, que ha sido preparado y publicado por Byk-Gulden, ahora Altana; arofilina, en desarrollo por Almirall-Prodesfarma; VM554/UM565 de Vernalis; o T-440 (Tanabe Seiyaku; Fuji, K. y col. J Pharmacol Exp Ther, 1998, 284(1): 162) y T2585.

Otros compuestos se divulgan en la solicitud de patente internacional publicada WO04/024728 (Glaxo Group Ltd), WO04/056823 (Glaxo Group Ltd) y WO04/103998 (Glaxo Group Ltd) (por ejemplo, el ejemplo 399 o 544 divulgados en dicho documento). Otros compuestos también se divulgan en los documentos WO2005/058892, WO2005/090348, WO2005/090353 y WO2005/090354, todos en el nombre de Glaxo Group Limited.

Ejemplos de agentes anticolinérgicos son los compuestos que actúan como antagonistas en los receptores muscarínicos, en particular los compuestos que son antagonistas de los receptores M₁ o M₃, antagonistas duales de los receptores M₁/M₃ o M₂/M₃ o panagonistas de los receptores M₁/M₂/M₃. Ejemplos de compuestos para la administración por inhalación incluyen ipratropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 22254-24-6, comercializado con la denominación Atrovent), oxitropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 30286-75-0) y tiotropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 136310-93-5, comercializado con la denominación Spiriva). También son de interés revatropato (por ejemplo, como el bromhidrato, CAS 262586-79-8) y LAS-34273 que se desvela en el documento WO01/04118. Los ejemplos de compuestos para administración oral incluyen pirenzepina (CAS 28797-61-7), darifenacina (CAS 133099-04-4 o CAS 133099-07-7 para el bromhidrato, comercializado con la denominación Enablex), oxibutinina (CAS 5633-20-5, comercializado con la denominación Ditropan), terodilina (CAS 15793-40-5), tolterodina (CAS 124937-51-5 o CAS 124937-52-6 para el tartrato, comercializado con la denominación Detrol), otilonio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 26095-59-0, comercializado con la denominación Spasmomen), cloruro

de trospio (CAS 10405-02-4) y solifenacina (CAS 242478-37-1 o CAS 242478-38-2 para el succinato también conocido como YM-905 y comercializado con la denominación Vesicare).

Se divulgan compuestos adicionales en los documentos WO 2005/037280, WO 2005/046586 y WO 2005/104745. Las presentes combinaciones incluyen, sin limitación:

- 5 yoduro de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tieniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (3-*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de 4-[hidroxi(difenil)metil]-1-{2-[(fenilmetil)oxi]etil}-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano; y
 bromuro de (1*R*,5*S*)-3-(2-ciano-2,2-difeniletetil)-8-metil-8-{2-[(fenilmetil)oxi]etil}-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano.

10 Otros agentes anticolinérgicos incluyen compuestos que se desvelan en la solicitud de patente de Estados Unidos 60/487981, incluidos, por ejemplo:

- bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tieniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano; y/o

15 bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano.

Otros agentes anticolinérgicos incluyen compuestos que se desvelan en la solicitud de patente de Estados Unidos 60/511009, incluidos, por ejemplo:

- yoduro de (*endo*)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionitrilo;

20 (*endo*)-8-metil-3-(2,2,2-trifenil-etil)-8-aza-bicyclo[3.2.1]octano;
 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;
 ácido 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propiónico;

- yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;

25 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propan-1-ol;
 N-bencil-3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;

- yoduro de (*endo*)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
 1-bencil-3-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;

1-etil-3-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;

30 N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]acetamida;
 N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]benzamida;

3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-di-tiofen-2-il-propionitrilo;

yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-eil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;

N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]bencenosulfonamida;

35 [3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;

N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]metanosulfonamida; y/o

bromuro de (*endo*)-3-[2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil]-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano.

Otros compuestos incluyen:

yoduro de (endo)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

yoduro de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

bromuro de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

yoduro de (endo)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

5 yoduro de (endo)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano; y/o

bromuro de (endo)-3-{2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil}-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano.

En una realización, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antagonista H1. Ejemplos de antagonistas H1 incluyen sin limitaciones, amexanox, astemizol, azatadina, azelastina, acrivastina, bromfeniramina, cetirizina, levocetirizina, efletirizina, clorfeniramina, clemastina, ciclizina, carebastina, ciproheptadina, carbinoxamina, descarboetoxiloratadina, doxilamina, dimetindeno, ebastina, epinastina, efletirizina, fexofenadina, hidroxicina, ketotifeno, loratadina, levocabastina, mizolastina, mequitazina, mianserina, noberastina, meclizina, norastemizol, olopatadina, picumast, pirlamina, prometazina, terfenadina, tripelennamina, temelastina, trimeprazina y triprolidina, particularmente cetirizina, levocetirizina, efletirizina y fexofenadina. En otra realización, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antagonista H3 (y/o un agonista inverso). Los ejemplos de antagonistas H3 incluyen, por ejemplo, los compuestos divulgados en el documento WO2004/035556 y en el documento WO2006/045416. Otros antagonistas de los receptores de histamina que pueden usarse en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen antagonistas (y/o agonistas inversos) del receptor H4, por ejemplo, los compuestos desvelados en Jablonowski y col., *J. Med. Chem.* 46:3957-3960 (2003).

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un inhibidor de la PDE4. Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista del receptor β_2 -adrenérgico.

25 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un corticosteroide.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista de GR no esteroideo.

30 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un anticolinérgico.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antihistamínico.

35 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un inhibidor de la PDE4 y un agonista del receptor β_2 -adrenérgico.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un anticolinérgico y un inhibidor de la PDE-4.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un corticosteroide.

40 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista del receptor β_2 -adrenérgico.

45 Las combinaciones a las que se ha hecho referencia anteriormente pueden presentarse de forma conveniente para su uso en forma de una composición farmacéutica y, por lo tanto, composiciones farmacéuticas, que comprende una combinación tal como se ha definido anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan otro aspecto de la invención.

Los compuestos individuales de dichas combinaciones pueden administrarse secuencialmente o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. En una realización, los compuestos se administrarán de forma simultánea en una formulación farmacéutica combinada. Los expertos en la técnica apreciarán las dosis adecuadas de agentes terapéuticos conocidos.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con otro agente terapéuticamente activo.

- 5 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un inhibidor de la PDE4.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista del receptor β_2 -adrenérgico.

- 10 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un corticosteroide.

- 15 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista GR no esteroideo.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un anticolinérgico.

- 20 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antihistamínico.

Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un inhibidor de la PDE4 y un agonista de los receptores β_2 -adrenérgicos.

- 25 Por lo tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un anticolinérgico y un inhibidor de la PDE4.

En un aspecto preferente, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un corticosteroide.

- 30 En otro aspecto preferente, la invención proporciona una composición que comprende una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agonista de los receptores β_2 -adrenérgicos.

A continuación se ilustrará la invención a modo de los ejemplos no limitantes siguientes.

Ejemplos

- 35 Los ejemplos siguientes ilustran la invención. Con estos ejemplos no se pretende limitar el ámbito de la presente invención, sino proporcionar guías para los expertos en la técnica para preparar y usar los compuestos y composiciones de la presente invención.

Procedimientos generales

Procedimientos de cromatografía de líquidos con espectroscopia de masas (CLEM)

- 40 Se ha llevado a cabo un análisis de CLEM usando uno de los procedimientos enumerados a continuación.

CLEM Procedimiento A

Espectrómetro de masas Waters ZQ que opera en modo de electropulverización de ion positivo, intervalo de masa: 100-1000 uma.

Longitud de onda UV: 215-330 nm

- 45 Columna: 3,3 cm x 4,6 mm ID, 3 μ m ABZ+PLUS

Caudal: 3 ml/min

Volumen de inyección: 5 μ l

ES 2 526 966 T3

Disolvente A: 95 % de acetonitrilo + 0,05 % de una solución al 1 % v/v de ácido fórmico en agua

Disolvente B: solución al 0,1% v/v de ácido fórmico en acetato de amonio acuoso 10 mM

Gradiente: Se usan mezclas de disolvente A y disolvente B según los perfiles de gradiente siguientes (expresados como % de disolvente A en la mezcla): 0 % de A/0,7 min, 0-100 % de A/3,5 min, 100 % de A/0,4min, 100-0 % de A/0,2min

5

CLEM Procedimiento B

La instrumentación de CLEM consiste en lo siguiente:

Columna: Acquity UPLC BEH C₁₈ 1,7 µm 2,1 mm x 50 mm. Horno de columna fijado a 40 grados centígrados

Disolvente A: Agua 0,1 % de ácido fórmico + acetato de amonio 10 mM

10 Disolvente B: MeCN: Agua 95:5 + 0,05 % de ácido fórmico

Volumen de inyección: 0,5 µl

Técnica de inyección: Sobrecarga parcial del bucle

Detección UV: 220 a 330 nm

Velocidad de la muestra UV: 40 puntos por segundo

15 Intervalo de barrido de la EM: 100 a 1000 uma

Velocidad de barrido de la EM: 0,2 segundos con un retraso entre barridos de 0,1 segundos

Función de barrido de la EM: Electropulverización con desplazamiento pos neg

Tiempo de ciclo: 2 minutos y 30 segundos

Gradiente:

Tiempo	Flujo ml/min	% de A	% de B
0	1	97	3
0,1	1	97	3
1,4	1	0	100
1,9	1	0	100
2	1	97	3

20

CLEM Procedimiento C

El análisis HPLC se realizó en una columna Sunfire C18 (30 mm x 4,6 mm i.d. 3,5 µm de diámetro de empaquetado) a 30 grados centígrados.

Disolvente A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua.

25 Disolvente B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo.

El gradiente usado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	3	97	3
0,1	3	97	3
4,2	3	0	100
4,8	3	0	100
4,9	3	97	3
5,0	3	97	3

La detección UV fue una señal promedio de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización de barrido alterno en modo positivo y negativo.

30

Procedimientos de HPLC preparativa automática dirigida por masa

Los procedimientos de la HPLC preparativa automática dirigida por masa usados para la purificación de compuestos se describen a continuación:

Procedimiento A

Columna

- 5 La columna usada es normalmene una columna Supelco LCABZ++ cuyas dimensiones son 20 mm de diámetro interno por 100 mm de longitud. El tamaño de partícula de la fase estacionaria es de 5 µm.

Disolventes:

A: Disolvente acuoso = agua + 0,1 % de ácido fórmico

B: Disolvente orgánico = MeCN: Agua 95:5 + 0,05 % de ácido fórmico

- 10 Disolvente de relleno = MeOH: agua 80:20 + acetato de amonio 50 mM

Disolvente de enjuague de aguja = MeOH: agua DMSO 80:10:10

Procedimientos

Existen cinco procedimientos que se usan dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés.

- 15 Todos tienen un tiempo de operación de 15 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos seguido por una columna de purga y etapa de reequilibrado.

tiempo de retención del compuesto 1,5-2,2 min = 0-30 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,0-2,8 min = 5-30 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,5-3,0 min = 15-55 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,8-4,0 min = 30-80 % de B

- 20 tiempo de retención del compuesto 3,8-5,5 min = 50-90 % de B

Caudal

Todos los procedimientos anteriores tienen un caudal de 20 ml/min

Se piensa que los compuestos básicos aislados mediante este procedimiento son sales formiato.

Procedimiento B

- 25 Columnas

Columna preparativa a escala pequeña

Columna Supelcosil ABZ+Plus cuyas dimensiones son 21,2 mm de diámetro interno por 100 mm de longitud. El tamaño de partícula de la fase estacionaria es de 5 µm.

Columna preparativa a escala grande

- 30 Columna Supelcosil ABZ+Plus cuyas dimensiones son 30,0 mm de diámetro interno por 150 mm de longitud. El tamaño de partícula de la fase estacionaria es de 12 µm.

Disolventes:

A: Disolvente acuoso = agua + 0,1 % de ácido fórmico

B: Disolvente orgánico = MeCN: Agua 95:5 + 0,05 % de ácido fórmico

- 35 Disolvente de relleno a ZQ = MeOH agua 80:20 + acetato de amonio 50 mM

2767 Disolvente de enjuague de aguja = MeOH: agua DMSO 80:10:10

Procedimientos para la preparativa a escala pequeña para hasta 30 mg

- 40 Existen diez procedimientos disponibles para su uso. La elección de procedimiento depende del tiempo de retención analítica del compuesto de interés (MDP = tiempo de retención determinado por el procedimiento A de CLEM anterior).

5 Cinco procedimientos tienen un tiempo de operación de 15 minutos, esto comprende un gradiente de 10 minutos seguido por una columna de purga y etapa de reequilibrado. Los otros cinco tienen un tiempo de operación de 25 minutos. En el presente documento, los procedimientos tienen los mismos puntos de partida y finales para el contenido orgánico de B, pero los gradientes se han prolongado un periodo de 20 minutos para proporcionar una resolución cromatográfica superior.

tiempo de retención del compuesto 1,5-2,2 min = 00-30 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,0-2,8 min = 10-40 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,5-3,0 min = 15-55 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,8-4,0 min = 30-80 % de B

10 tiempo de retención del compuesto 3,8-5,5 min = 60-90 % de B

Los caudales para los procedimientos anteriores son de 20 ml/min

Procedimientos para la preparativa a gran pequeña para hasta 90 mg

15 Debido a la diferente dimensión de la columna y el tamaño de partícula de fase, el porcentaje de contenido orgánico varía ligeramente de los procedimientos a pequeña escala. Como para pequeña escala, existen diez procedimientos disponibles para su uso. La elección de procedimiento depende del tiempo de retención analítica del compuesto de interés (MDP = tiempo de retención determinado por el procedimiento A de CLEM anterior).

20 Cinco procedimientos tienen un tiempo de operación de 15 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos seguido por una columna de purga y etapa de reequilibrado. Los otros cinco tienen un tiempo de operación de 25 minutos. En el presente documento, los procedimientos tienen los mismos puntos de partida y finales para el contenido orgánico de B, pero los gradientes se han prolongado un periodo de 20 minutos para proporcionar una resolución cromatográfica superior.

tiempo de retención del compuesto 1,5-2,2 min = 00-30 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,0-2,8 min = 10-40 % de B

tiempo de retención del compuesto 2,5-3,0 min = 25-55 % de B

25 tiempo de retención del compuesto 2,8-4,0 min = 40-75 % de B

tiempo de retención del compuesto 3,8-5,5 min = 60-90 % de B

Los caudales para los procedimientos anteriores son de 40 ml/min

Se piensa que los compuestos básicos aislados mediante este procedimiento son sales formiato.

Columna, condiciones y eluyente de HPLC preparativa automática dirigida por masa Procedimiento C

30 Detalles de la columna: Zorbax Eclipse XDB-C18 prep HT (dimensiones 212 x 100 mm, 5 µm de empaquetamiento)
Software/hardware: Programa Agilent 1100 series LC/MSD, software de purificación chemstation 32. Se recoge en activador de iones por uv/masa

Disolventes:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua

35 B = solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo.

20 ml/min de velocidad del disolvente, gradiente de elución:

1 min 90 % de agua (0,1 % de TFA):10 % de MECN (0,1 % de TFA) aumentando en un periodo de 9 min a 5 % de agua (0,1 % de TFA):95 % de MECN (0,1 % de TFA) para eluir los compuestos.

Columna, condiciones y eluyente de HPLC preparativa automática dirigida por masa Procedimiento D

40 Detalles de la columna: Columna XBRIDGE C18 (100 x 19 mm id 5 µM de diámetro de empaquetado)

Disolventes

A=Bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado hasta pH 10 con solución de amoniaco ac.

B= Acetonitrilo

La detección UV fue una señal promedio de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización de barrido alterno en modo positivo y negativo.

Columna, condiciones y eluyente de HPLC preparativa automática dirigida por masa

5 **Procedimiento E**

El sistema preparativo automático dirigido por masa consiste en:

Espectrómetro de masas Waters ZQ

Bomba Waters 2525

Gestor de reactivo Waters

10 Automuestreador Waters 2767

Automuestreador Gilson 202

Detector Gilson 115 UV

Caja separadora

Conmutador de columna Phenomenex

15 Volumen de inyección: 0,5 ml

Caudal (fase móvil): 20 ml/minuto

Columna: Supelco ABZ+ plus 100 mm x 21,2 mm, 5 µm

Fase móvil:

A) solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua

20 B) 95 % de acetonitrilo + 5 % de una solución al 1 % v/v de ácido fórmico en agua

Caudal de relleno: 80 % de metanol + 20 % de solución al 0,1% v/v de ácido fórmico en acetato de amonio acuoso 10 mM

Se realizaron dos inyecciones por muestra en los procedimientos genéricos 2,5-3,0 y 2,8-4,0.

Gradiente

Tiempo (minutos)	2,5-3,0 % de B	2,8-4,0 % de B
0	15	30
1	15	30
10	55	85
14	99	99
14,8	99	99
15	15	30

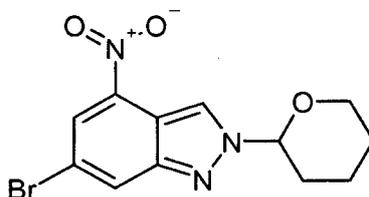
25

Productos intermedios y ejemplos

30 Cuando se da el nombre de un proveedor comercial tras la denominación de un compuesto o reactivo, por ejemplo "compuesto X (Aldrich)" o "compuesto X/Aldrich", significa que el compuesto X se puede obtener de un proveedor comercial, tal como el proveedor comercial nombrado. Si no se hace referencia en el presente documento, el compuesto o reactivo se puede adquirir en un proveedor estándar, como Sigma Aldrich, Lancaster, Fluorochem, TCI etc.

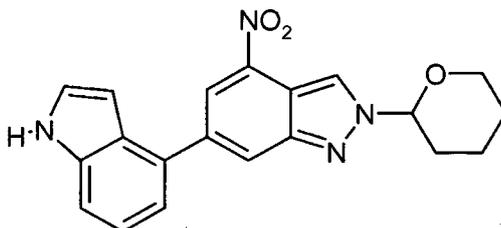
De forma similar, cuando un documento de la literatura o una referencia a una patente se da después de la denominación del compuesto, por ejemplo el compuesto Y (documento EP 0 123 456), esto significa que la preparación del compuesto se describe en la referencia indicada.

35 Las denominaciones de los ejemplos se han obtenido usando un programa de nombrado de compuestos que relaciona la estructura con el nombre (por ejemplo, ACD/Name Batch v 9.0).

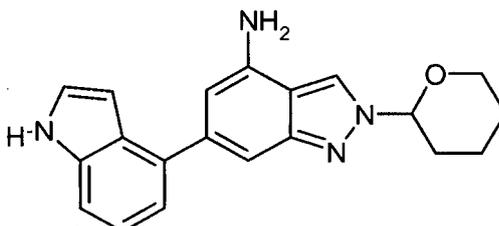
Intermedio 1**6-Bromo-4-nitro-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol**

- 5 Una mezcla de 6-bromo-4-nitro-1H-indazol (10,0 g, 0,041 mol), 3,4-dihidropirano (8,52 ml, 0,09 mol) y para-tolueno-sulfonato de piridinio (125 mg, 0,50 mol) en diclorometano (150 ml) se calentó a reflujo durante 4,5 horas. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se vertió en bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con ácido cítrico acuoso al 5 % (p/v, 100 ml) y salmuera (100 ml), después se secó sobre sulfato de magnesio. El disolvente se eliminó al vacío dando el compuesto del título que se usó en reacciones subsiguientes
- 10 sin purificación adicional (12,89 g).

CLEM (Procedimiento A) m/z 326 $[MH^+]$; $T_r = 3,42$ min.

Intermedio 2**6-(1H-Indol-4-il)-4-nitro-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol**

- 15 Se llevaron a cabo cinco reacciones con 6-bromo-4-nitro-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol (500 mg, 1,53 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (125 mg, 0,153 mmol), ácido 1H-indol-4-ilborónico (370 mg, 2,3 mmol), hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (3 ml) y alcohol isopropílico (12 ml) en cada una. Todas ellas se calentaron a 150 °C durante 10 minutos en el microondas. Las mezclas de reacción se combinaron y se añadió agua (250 ml) y acetato de etilo (250 ml). La mezcla se filtró y la capa orgánica se recogió. La capa orgánica se lavó con agua y después salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano y se preabsorbió en sílice. La purificación se llevó a cabo usando cromatografía en sílice eluyendo con el 0-25 % de acetato de etilo en ciclohexano. Las fracciones deseadas se recogieron y se combinaron y el disolvente se eliminó al vacío dando el compuesto del título como un sólido amarillo (1,72 g).
- 20
- 25 CLEM (Procedimiento A) m/z 363 $[MH^+]$; $T_r = 3,61$ min.

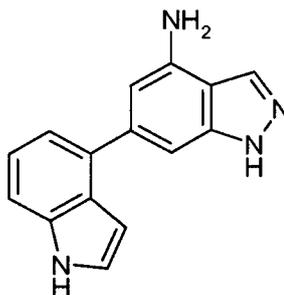
Intermedio 3**6-(1H-Indol-4-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina**

Se disolvió 6-(1*H*-indol-4-il)-4-nitro-2-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-2*H*-indazol (714 mg, 1,97 mmol) en acetato de etilo (100 ml) y el compuesto se hidrogenó usando el H-cube™ (disponible de THALESNano) usando catalizador de Pd al 10 %/C a 30 °C y a una presión de 3000 kPa de hidrógeno. El disolvente se eliminó al vacío. El compuesto del título se aisló como un sólido naranja/marrón (629 mg) que se usó en reacciones subsiguientes sin purificación adicional.

5 CLEM (Procedimiento A) m/z 333 $[MH^+]$; T_r = 2,86 min.

Intermedio 4

6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina



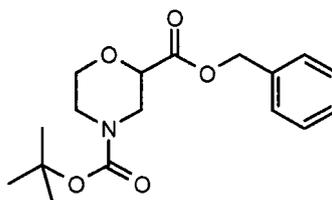
10 Se disolvieron 6-bromo-1*H*-indazol-4-amina (10 g, disponible de Sinova Inc.) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-indol (16,05 g, disponible de Frontier Scientific, Europe Ltd) en 1,4-dioxano (60 ml) y agua (60 ml). Se añadieron carbonato de sodio 2 M (70,7 ml) y aducto Pd(dppf)Cl₂-DCM (1,93 g) y la mezcla se calentó a 115 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (200 ml) y las capas orgánica y acuosa se separaron usando una frita hidrófoba. La capa acuosa se extrajo con cantidades adicionales de diclorometano (2 x 200 ml), usando una frita hidrófoba para separar las capas. Las capas orgánicas se combinaron y se añadió sílice (80 g). El disolvente se eliminó al vacío dando un material bruto que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (cartucho de 750 g, Flashmaster II) eluyendo con el 0-100 % de acetato de etilo en ciclohexano en un periodo de 60 minutos. El aceite se secó al vacío en una rejilla de secado durante la noche. La espuma amarilla resultante se disolvió en diclorometano (3 x 400 ml), eliminando el disolvente al vacío después de cada disolución. Después se añadió acetato de etilo (50 ml) y el disolvente se eliminó al vacío. El sólido obtenido se secó en un horno de vacío proporcionando el compuesto del título (12,8 g) como una espuma amarilla.

15 20

CLEM (Procedimiento A) m/z 249 $[MH^+]$; T_r = 2,71 min.

Intermedio 5

2,4-Morfolinodicarboxilato de 4-(1,1-dimetiletil)-2-(fenilmetilo)



25 Se disolvió ácido 4-[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil]-2-morfolinocarboxílico [suministrado por NeoMPS] (1 g, 4,32 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (20 ml) y se añadió carbonato de potasio (0,598 g, 4,32 mmol). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 15 minutos a 20 °C. Se añadió bromometilbenceno (0,514 ml, 4,32 mmol) y la mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadieron agua (25 ml) y diclorometano (20 ml) y se realizó la separación con una frita hidrófoba. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml). Las fases orgánicas se combinaron y el disolvente se eliminó al vacío. Al residuo se añadieron solución de cloruro de litio al 1 % (20 ml) y dietiléter (20 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con dietiléter (2 x 15 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y el disolvente se eliminó al vacío dando el compuesto del título (1,19 g) como un aceite incoloro.

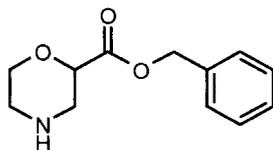
30

CLEM (Procedimiento A): m/z 322 $[MH^+]$, T_r = 3,28 min.

Intermedio 6

2-Morfolinocarboxilato de fenilmetilo

35

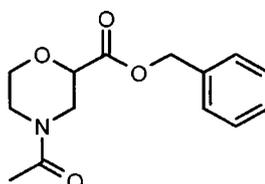


- 5 Se disolvió 2,4-morfolinodicarboxilato de 4-(1,1-dimetiletil)-2-(fenilmetilo) (1,19 g, 3,70 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). Se añadió cloruro de hidrógeno (4 M) en 1,4-dioxano (20 ml, 80 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante 4 h. El disolvente se eliminó al vacío dando un sólido blanco. El sólido se secó en un horno de vacío durante la noche dando el compuesto del título (908 mg) como un sólido blanco.

CLEM (Procedimiento A): m/z 222 $[MH^+]$, $T_r = 1,93$ min.

Intermedio 7

4-Acetil-2-morfolinocarboxilato de fenilmetilo

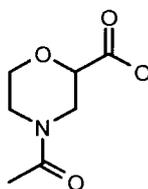


- 10 Se disolvió 2-morfolinocarboxilato de fenilmetilo (450 mg, 2,034 mmol) en diclorometano (30 ml). Se añadieron DIPEA (0,71 ml, 4,07 mmol) y anhídrido acético (0,23 ml, 2,441 mmol) y la mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 18 h. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se repartió entre diclorometano (20 ml) y agua (20 ml) y se realizó la separación con una frita hidrófoba. La capa acuosa se lavó con diclorometano (2 x 10 ml) y a las fases orgánicas combinadas se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio (20 ml). Las fases se separaron mediante una frita hidrófoba y la capa acuosa se lavó con diclorometano (2 x 10 ml).
15 El disolvente se eliminó al vacío, el residuo se disolvió en diclorometano (< 5 ml) y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (20 g de sílice, gradiente de elución, 0-100 % de EtOAc-ciclohexano, después 0-20 % de MeOH). El disolvente se eliminó al vacío dando el compuesto del título (313 mg, 1,19 mmol) como un aceite incoloro.

CLEM (Procedimiento A): m/z 264 $[MH^+]$, $T_r = 2,47$ min.

- 20 **Intermedio 8**

Ácido 4-acetil-2-morfolinocarboxílico

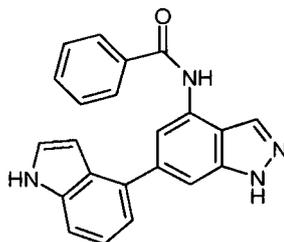


- 25 Se disolvió 4-acetil-2-morfolinocarboxilato de fenilmetilo (313 mg, 1,189 mmol) en etanol (5 ml) y se hidrogenó a 3000 kPa en un H-Cube usando paladio al 10 % sobre carbono. La mezcla se sometió a soplado hasta sequedad con una corriente de nitrógeno dando el material de partida. El material de partida se disolvió en etanol (5 ml) y se hidrógeno a 5000 kPa en un H-Cube usado paladio al 10 % sobre carbono. La mezcla se sometió a soplada hasta sequedad con una corriente de nitrógeno dando el compuesto del título (50 mg) como un aceite incoloro.

CLEM (Procedimiento A): m/z 174 $[MH^+]$, $T_r = 0,48$ min.

Ejemplo 1

- 30 ***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-benzamida**



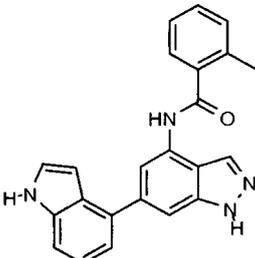
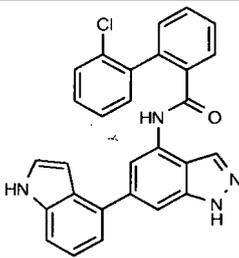
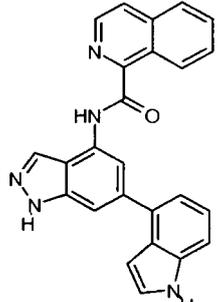
5 Se trató ácido benzoico (10 mg, 0,08 mmol) en DMF (0,2 ml) con HATU (27 mg, 0,07 mmol) en DMF (0,2 ml) y DIPEA (30 μ l, 0,24 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos antes del tratamiento con 6-(1H-indol-4-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina (20 mg, 0,06 mmol) en DMF (0,2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos y se dejó en reposo a 22 °C durante 18 h. El disolvente se eliminó al vacío y el producto se volvió a disolver en metanol (1 ml) antes de su aplicación a un cartucho SCX (1 g). El producto se eluyó después de 1 h con amoniaco 2 M en metanol (2 x 3 ml), las fracciones se combinaron y se concentraron en una corriente de nitrógeno usando un aparato de soplado. La purificación mediante MDAP (Procedimiento D) proporcionó el compuesto del título.

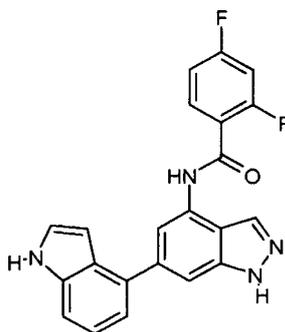
10 CLEM (Procedimiento A) m/z 353 $[MH^+]$; T_r = 3,18 min.

Se prepararon de forma similar:

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Ácido precursor	CLEM T_r	MH^+
2	2-fluoro-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida		Ácido 2-fluorobenzoico	3,23	371
3	2,3-difluoro-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida		Ácido 2,3-difluorobenzoico	3,28	389
4	2,5-difluoro-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida		Ácido 2,5-difluorobenzoico	3,31	389

(continuación)

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Ácido precursor	CLEM T _r	MH ⁺
5	<i>N</i>-[6-(1<i>H</i>-indol-4-il)-1<i>H</i>indazol-4-il]-2-metilbenzamida		Ácido 2-metilbenzoico	3,23	367
6	2'-cloro-<i>N</i>-[6-(1<i>H</i>-indol-4-il)-1<i>H</i>indazol-4-il]-2-bifenilcarboxamida		Ácido 2-[(1 <i>Z</i>)-2-cloro-1-etenil-1,3-butadien-1-il]benzoico (disponible de Apollo Scientific)	3,45	463
7	<i>N</i>-[6-(1<i>H</i>-indol-4-yl)-1<i>H</i>indazol-4-il]-1-isoquinolincarboxamida		Ácido 1-isoquinolincarboxílico	3,68	404

Ejemplo 8**2,4-difluoro-*N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*indazol-4-il]-benzamida**

5

10

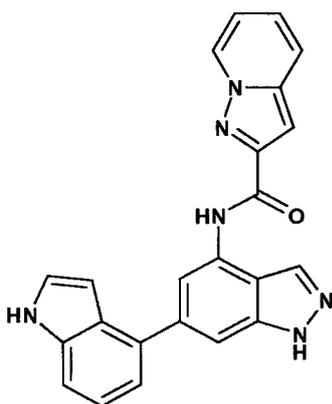
Se trató ácido 2,4-difluorobenzoico (9 mg, 0,06 mmol) en DMF (0,2 ml) con HATU (27 mg, 0,07 mmol) en DMF (0,2 ml) y di-isopropiletilamina (0,030 ml, 0,24 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos antes del tratamiento con 6-(1*H*-indol-4-il)-2-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-2*H*-indazol-4-amina (20 mg, 0,06 mmol) en DMF (0,2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos y se dejó en reposo a 22 °C durante 18 h. El disolvente se eliminó al vacío y el producto se volvió a disolver en metanol (0,5 ml) antes de su aplicación a un cartucho SCX (1 g). El producto se eluyó después de 1 h con amoníaco 2 M en metanol (2 x 3 ml), las fracciones se combinaron y se concentraron en una corriente de nitrógeno usando un aparato de soplado. La purificación mediante MDAP (Procedimiento D) proporcionó el compuesto del título. CLEM (Procedimiento A) *m/z* 389 [MH⁺]; T_r = 1,04 min.

Se prepararon de forma similar:

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Ácido precursor	CLEM T _r (min)	MH ⁺
9	2,6-difluoro-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida		Ácido 2,6-difluorobenzoico	0,99	389
10	N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-2-(metiloxi)benzamida		Ácido 2-(metiloxi)benzoico	1,06	383
11	2-[(difluorometil)oxi]-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida		Ácido 2-[(difluorometil)oxi]benzoico (disponible de JRD Fluorochemicals Ltd)	1,04	419

Ejemplo 12

N-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]pirazolo[1,5-a]piridina-2-carboxamida

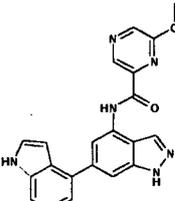
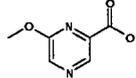


- 5 Se trató ácido pirazolo[1,5-a]piridina-2-carboxílico (27 mg, 0,166 mmol) con THF anhidro (2 ml) y después 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (0,026 ml, 0,20 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante 2 h. La reacción se trató después con DIPEA anhidra (0,131 ml, 0,753 mmol) y 2 ml de solución de 6-(1H-indol-4-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina (750 mg, 2,26 mmol) en THF (30 ml). La reacción se agitó después a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante 69 h. El disolvente se sometió a soplado
- 10 con una corriente de nitrógeno, se disolvió en metanol (3 ml) y después el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción se disolvió en metanol (5 ml), se trató con ácido tósico macroporoso (4,45 mmol/g, 102 mg, 0,45 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 17 h y después se trató con amoníaco 0,88 (0,5 ml), se agitó

durante 30 minutos y después se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida y después el residuo se purificó mediante HPLC preparativa dirigida por masa (procedimiento B), dando el compuesto del título.

CLEM (Procedimiento B) m/z 393 $[MH^+]$; $T_r = 1,02$ min.

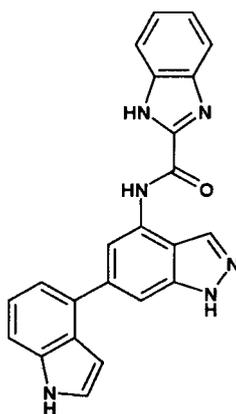
De un modo similar se preparó

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Monómero de ácido	T_r min	MH^+
13	N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-6-(metiloxi)-2-pirazincarboxamida			1,01	385

5

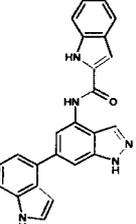
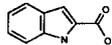
Ejemplo 14

N-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-1H-bencimidazol-2-carboxamida

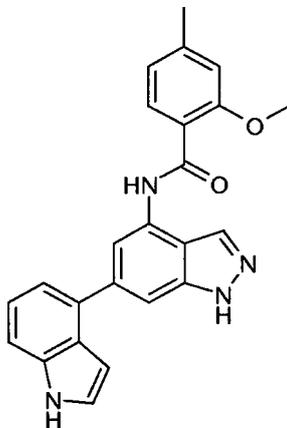


10 Se disolvieron ácido 1H-benzimidazol-2-carboxílico (disponible de Apollo Scientific, 25 mg, 0,151 mmol), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (63 mg, 0,17 mmol) y 6-(1H-indol-4-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina (50 mg, 0,15 mmol) en DMF anhidra (3 ml) y después se trató con DIPEA (0,05 ml, 0,30 mmol). Las reacciones se agitaron después a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se trató con metanol (3 ml) y después ácido tóxico macroporoso (170 mg, 0,75 mmol) y después se agitó durante 15 horas. Después la mezcla se trató con solución de amoníaco 0,88 (0,60 ml), se agitó durante 10 min, después se filtró y el disolvente se eliminó por soplado con una corriente de nitrógeno. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida por masa (Procedimiento B) dando después de la evaporación de los disolventes el compuesto del título como un sólido amarillo (27 mg). CLEM (Procedimiento B) m/z 393 $[MH^+]$; $T_r = 1,04$ min.

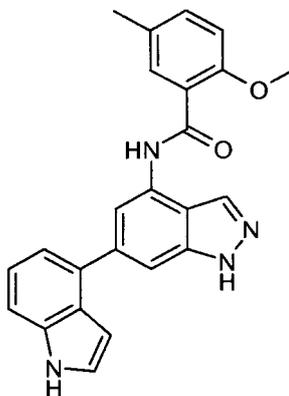
El compuesto enumerado en la tabla siguiente se sintetizó usando el procedimiento anterior.

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Monómero de ácido	T_r min	MH^+
15	N-[6-(1H-indol-4-yl)-1H-indazol-4-yl]-1H-indole-2-carboxamide			1,09	392

20

Ejemplo 16***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-(metiloxi)benzamida**

- 5 A una solución de ácido 4-metil-2-(metiloxi)benzoico (67 mg, 0,40 mmol) en DMF (1 ml) se añadieron HATU (248 mg, 0,40 mmol) y DIPEA (0,211 ml, 1,21 mmol). La mezcla se agitó durante 30 min en atmósfera de nitrógeno antes de la adición de 6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina (50 mg, 0,201 mmol). La reacción se agitó durante 2 h, después se cargó en un cartucho de PS-aminopropilo (5 g) y se dejó durante 3 h. El cartucho se lavó con MeOH al 10 % en DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en MeOH:
- 10 DMSO (1 ml; 1:1, v/v) y se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida por masa usando el procedimiento B. El disolvente se evaporó con una corriente de nitrógeno dando el compuesto del título (13 mg). CLEM (Procedimiento B) *m/z* 397 [MH⁺]; T_r = 1,12 min.

Ejemplo 17***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-5-metil-2-(metiloxi)benzamida**

- 15 A una solución de ácido 5-metil-2-(metiloxi)benzoico (67 mg, 0,40 mmol) en DMF (1 ml) se añadieron HATU (248 mg, 0,40 mmol) y DIPEA (156 ml, 1,208 mmol). La reacción se agitó durante 30 min en atmósfera de nitrógeno antes de la adición de 6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina (50 mg, 0,20 mmol). La reacción se agitó durante 3 h, después se cargó en un cartucho de PS-aminopropilo y se dejó durante 3 h. El cartucho se lavó con MeOH al 10 % en DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml;
- 20 1:1, v/v) y se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida a masa usando el procedimiento B. El disolvente se secó con una corriente de nitrógeno. El residuo se disolvió en DMSO y se purificó adicionalmente mediante HPLC usando las condiciones siguientes:

Columna: Supelco ABZ+ Plus, 5 μm, 100 x 21,2 mm i.d.

Disolvente A:: 0,1 % de ácido fórmico en agua

- 25 Disolvente B: 1% de ácido fórmico en agua:MeCN (5:95, v/v)

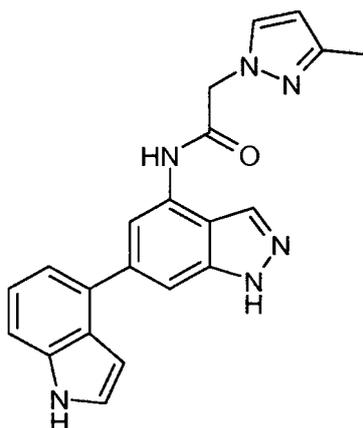
Caudal: 20 ml/min

Gradiente: 35 - 80 % de B en un periodo de 25 minutos.

Las fracciones apropiadas se evaporaron con una corriente de nitrógeno, dando el compuesto del título (9 mg). CLEM (Procedimiento B) m/z 397 $[MH^+]$; $T_r = 1,13$ min.

Ejemplo 18

5 ***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(3-metil-1*H*-pirazol-1-il)acetamida**

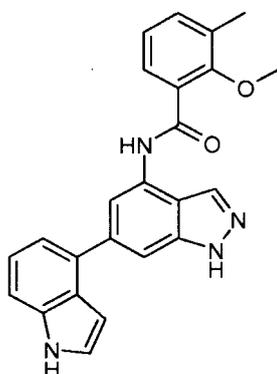


Se disolvieron ácido (3-metil-1*H*-pirazol-1-il)acético (38 mg, 0,27 mmol) (de Art-Chem GmbH), HATU (126 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,158 ml, 0,91 mmol) en DMF (2 ml) y se agitaron en atmósfera de nitrógeno durante 30 min. Se añadió 6-(1*H*-indol-4-il)-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-indazol-4-amina (100 mg, 0,30 mmol) y la reacción se agitó durante 5 h. Se añadió más ácido (3-metil-1*H*-pirazol-1-il)acético (38 mg, 0,27 mmol), HATU (126 mg, 0,33 mmol) y DIPEA (0,158 ml, 0,91 mmol) en DMF (1 ml), después se agitó todo junto durante 10 min y la reacción se agitó durante 2 días en atmósfera de nitrógeno a TA. La reacción se cargó en un cartucho de PS-aminopropilo (10 g) y se eluyó con DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío. Se añadió MeOH (2 ml) y HCl (ac) 2 M (45 μ l, 0,09 mmol) y se agitó durante < 30 min a TA. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en MeOH:DMSO (2 ml; 1:1, v/v) y se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida por masa usando el procedimiento B. El disolvente se secó con una corriente de nitrógeno, dando el compuesto del título (31 g).

CLEM (Procedimiento B) m/z 371 $[MH^+]$; $T_r = 0,9$ min.

Ejemplo 19

20 ***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metil-2-(metiloxi)benzamida**

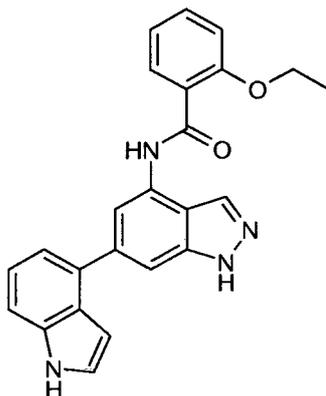


Se añadió DMF (1 ml) a ácido 3-metil-2-(metiloxi)benzoico (134 mg, 0,81 mmol) (Apin Chemicals), HATU (306 mg, 0,81 mmol) y DIPEA (0,422 ml, 2,417 mmol). La reacción se agitó durante 30 min en atmósfera de nitrógeno antes de la adición de 6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina (100 mg, 0,403 mmol). La reacción se agitó durante la noche

5 en atmósfera de nitrógeno a TA, después se cargó en un cartucho de PS-aminopropilo y se dejó durante 3 h. El cartucho se lavó con MeOH al 10 % en DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en MeOH:DMSO (2 ml; 1:1, v/v) y se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida por masa usando el procedimiento B. El disolvente se secó con una corriente de nitrógeno, dando el compuesto del título (6 mg). CLEM (Procedimiento B) m/z 397 $[MH^+]$; $T_r = 1,13$ min.

Ejemplo 20

2-(Etiloxi)-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-benzamida

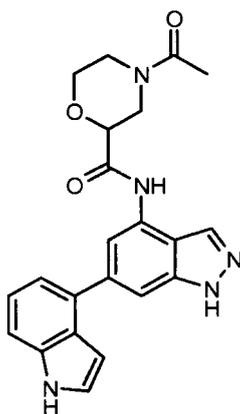


10 A una solución de ácido 2-(etiloxi)benzoico (67 mg, 0,40 mmol) en DMF (1 ml) se añadieron HATU (248 mg, 0,40 mmol) y DIPEA (0,211 ml, 1,21 mmol). La reacción se agitó durante 30 min en atmósfera de nitrógeno antes de la adición de 6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-amina (50 mg, 0,20 mmol). La reacción se agitó durante la noche, después se cargó en un cartucho de PS-aminopropilo (5 g) y se dejó durante 3 h. El cartucho se lavó con MeOH al 10 % en DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en MeOH:DMSO (1 ml; 1:1, v/v) y se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida a masa usando el procedimiento B. Las fracciones apropiadas se secaron con una corriente de nitrógeno dando el compuesto del título, 27 mg.

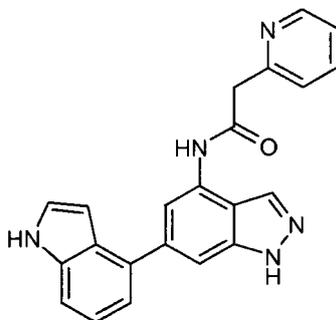
15 CLEM (Procedimiento B) m/z 397 $[MH^+]$; $T_r = 1,11$ min.

Ejemplo 21

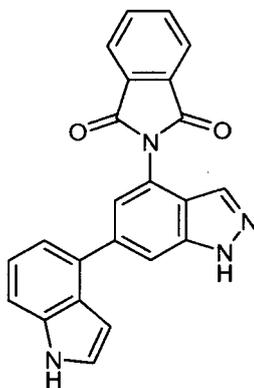
4-Acetil-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-2-morfolinocarboxamida



20 A una solución de HATU (0,107 g, 0,28 mmol) en DMF seca (3 ml) se añadió ácido 4-acetil-2-morfolinocarboxílico (0,05 g, 0,282 mmol). Se añadió DIPEA (0,098 ml, 0,56 mmol) y la mezcla se dejó en reposo durante 10 min. Se añadió 6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-amina (0,04 g, 0,14 mmol), disuelta en DMF seca (3 ml), y la solución se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 20 h. La DMF se eliminó mediante soplado con una corriente de nitrógeno, después el residuo se disolvió y se purificó mediante el procedimiento B autoprep dirigido a masa. El disolvente se eliminó al vacío y el producto se secó en un horno de vacío a 50 °C durante la noche dando el compuesto del título como aceite marrón (17 mg). CLEM (Procedimiento A): m/z 404 $[MH^+]$, $T_r = 2,72$ min.

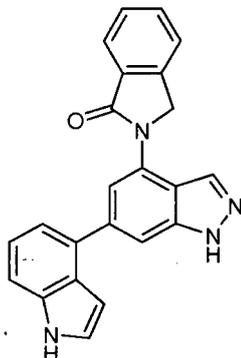
Ejemplo 22**N-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-2-(2-piridinil)acetamida**

5 Se combinaron clorhidrato de ácido 2-piridilacético (0,033 g, 0,191 mmol), HATU (0,084 g, 0,220 mmol) y DIPEA (0,130 ml, 0,764 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 20 °C durante 10 minutos. Se añadió 6-(1H-indol-4-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina (0,07 g, 0,20 mmol) y la reacción se agitó durante 5 h a 20 °C. Se preparó un segundo lote de clorhidrato de ácido 2-piridilacético (0,033 g, 0,191 mmol), HATU (0,084 g, 0,220 mmol) y DIPEA (0,130 ml, 0,764 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 20 °C durante 10 minutos. Se añadió a la mezcla de reacción principal y se agitó durante 3 días (fin el semana) a 20 °C. La mezcla de reacción se aplicó a un cartucho de 5 g de NH2-SPE y se eluyó con metanol al 10 % en diclorometano. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante autoprep dirigida por masa (Procedimiento B) dando el compuesto del título (0,018 g). CLEM (Procedimiento B) muestra m/z 368 [MH⁺]; T_r = 0,83 min.

Ejemplo 23**2-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona**

15 Una mezcla de 6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-amina (500 mg, 2,014 mmol), 2-benzofurano-1,3-diona (298 mg, 2,014 mmol) y DMF (2,5 ml) se dispuso en un vial de Biotage (2-5 ml) equipado con una barra agitadora magnética. El vial se dispuso en un microondas Biotage Initiator y se calentó a 150 °C durante 30 min y después de nuevo a 150 °C durante 15 minutos adicionales. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad dando un aceite marrón que se disolvió en diclorometano y se aplicó a un cartucho SPE de 100 g de sílice. El cartucho se eluyó en un instrumento Flashmaster (II) usando un gradiente del 0-100 % de acetato de etilo en ciclohexano en un periodo de 40 min seguido por el 0-20 % de metanol en ciclohexano en un periodo de 15 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron dando el compuesto del título (481 mg) en forma de una espuma de color amarillo pálido. CLEM (Procedimiento B) muestra m/z 379 [MH⁺]; T_r = 1,04 min.

Ejemplo 24**2-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-1-ona**

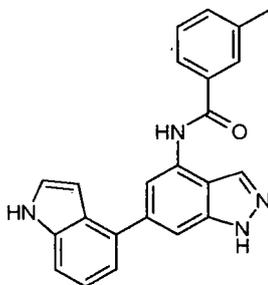


Una mezcla de 6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-amina (100 mg, 0,403 mmol) y 1,2-bencenodicarbaldéido (54 mg, 0,403 mmol) en acetato de etilo (1 ml) y ácido acético (0,25 ml) se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 3 h y después durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se lavó con solución al 5 % de bicarbonato de sodio (10 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo adicional (20 ml). Los extractos orgánicos combinados (que contenían una cantidad pequeña de sólido insoluble) se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron dando una espuma amarilla. Esta se disolvió parcialmente en acetato de etilo (20 ml) y se preadsorbió en sílice (1,5 g). Esta sílice se añadió después a la parte superior de un cartucho SPE de 20 g de sílice. El cartucho se eluyó en un instrumento Flashmaster (II) usando un gradiente del 0 – 100 % de acetato de etilo en ciclohexano en un periodo de 30 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron dando el compuesto del título (20 mg) como un sólido amarillo pálido.

CLEM (Procedimiento B) muestra m/z 365 $[MH^+]$; $T_r = 1,00$ min.

Ejemplo 25

15 ***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metilbenzamida**

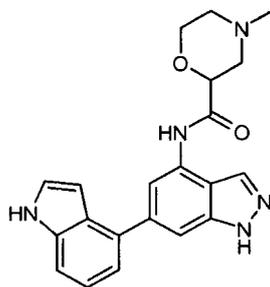


Se trató ácido 3-metilbenzoico (60 mg, 0,44 mmol) con HATU (168 mg, 0,44 mmol) en DMF (0,750 ml) y DIPEA (0,15 ml, 0,86 mmol). La mezcla se agitó durante cinco minutos antes del tratamiento con 6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina (50 mg, 0,2 mmol) en DMF (0,350 ml) y se dejó después en reposo a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó al vacío y el producto se volvió a disolver en cloroformo (0,3 ml) antes de su aplicación a un cartucho de NH₂ acondicionado previamente (metanol y después cloroformo) (1g). El producto se eluyó después de 2 h con acetato de etilo/metanol (1:1, 3,2 ml) y se concentró con una corriente de nitrógeno usando un aparato de soplado. La purificación mediante MDAP (Procedimiento C) proporcionó el compuesto del título.

CLEM (Procedimiento A) m/z 367 $[MH^+]$; $T_r = 3,30$ min.

25 **Ejemplo 26**

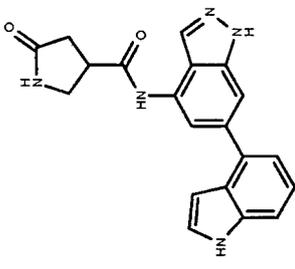
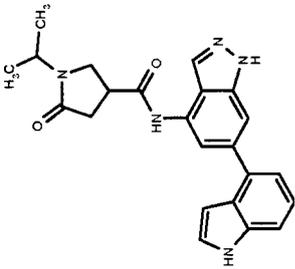
***N*-[6-(1*H*-Indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-morfolinoarboxamida**

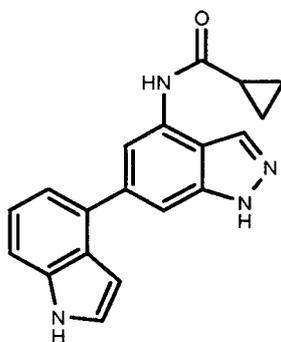


- 5 Se trató clorhidrato de ácido 2-morfolinocarboxílico (40 mg, 0,22 mmol) con HATU (84 mg, 0,22 mmol) en DMF (0,250 ml) y DIPEA (0,069 ml, 0,40 mmol). La mezcla se agitó durante cinco minutos antes del tratamiento con 6-(1H-indol-4-yl)-1H-indazol-4-amina (25 mg, 0,1 mmol) en DMF (0,25 ml). La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 18 h. El disolvente se eliminó al vacío y el producto se volvió a disolver en cloroformo (0,3 ml) antes de la aplicación a un cartucho de NH₂ acondicionado previamente (metanol y después cloroformo) (0,5 g). El producto se eluyó después de 2 h con acetato de etilo/metanol (1:1, 3 ml) y se concentró con una corriente de nitrógeno usando un aparato de soplado. La purificación mediante MDAP (Procedimiento D) proporcionó el compuesto del título.
- 10 CLEM (Procedimiento B) *m/z* 376 [MH⁺]; T_r = 0,60 min.

De un modo similar se preparó

Ejemplo Nº	Denominación	Estructura	Ácido precursor	CLEM T _r (min)	MH ⁺
27	1-acetil-N-[6-(1H-indol-4-yl)-1H-indazol-4-yl]-4-piperidincarboxamida		Ácido 1-acetil-4-piperidincarboxílico	0,8	402
28	N-[6-(1H-indol-4-yl)-1H-indazol-4-yl]-1-metil-4-piperidincarboxamida		Clorhidrato del ácido 1-metil-4-piperidincarboxílico	0,6	374
29	N-[6-(1H-indol-4-yl)-1H-indazol-4-yl]-1-(metilsulfonil)-4-piperidincarboxamida		Ácido 1-(metilsulfonil)-4-piperidincarboxílico (disponible de ABCR)	0,85	438

Ejemplo N°	Denominación	Estructura	Ácido precursor	CLEM T _r (min)	MH ⁺
30	N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-5-oxo-3-pirrolidincarboxamida		Ácido 5-oxo-3-pirrolidincarboxílico	0,72	360
31	N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-1-(1-metil)-5-oxo-3-pirrolidincarboxamida		Ácido 1-(1-metil)-5-oxo-3-pirrolidincarboxílico	0,83	402

Ejemplo 32**N-[6-(1H-Indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-ciclopropanocarboxamida**

5

A una solución de 6-(1H-indol-4-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-2H-indazol-4-amina (46 mg, 0,137 mmol) en DCM (1 ml) se añadió DIPEA (0,119 ml, 0,684 mmol) y cloruro de ciclopropilcarbonilo (29 mg, 0,274 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se añadió solución de hidróxido de sodio 2 M (2 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora adicional. La capa orgánica se recogió haciéndola pasar a

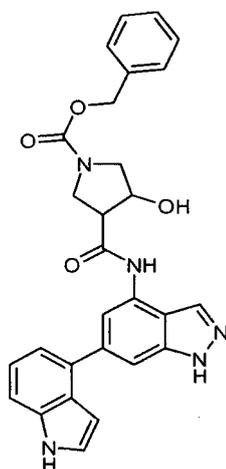
través de una frita hidrófoba. La capa acuosa se lavó varias veces con DCM. Los extractos orgánicos se combinaron y el disolvente se eliminó por soplado. El residuo se disolvió en metanol (2 ml) y se añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (2 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó mediante soplado y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa dirigida a masa (procedimiento B). El sólido se liofilizó dando el compuesto del título como un sólido marrón pálido (9 mg). CLEM (Procedimiento A) m/z 317 $[MH^+]$; $T_r = 2,91$ min.

5

Número de ejemplo	Denominación	Estructura	Precursor cloruro de ácido	T_r (min)	MH^+
33	3-(dimetilamino)-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida			3,23	396
34	Ácido fórmico- 4-amino-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]benzamida (1:1)			2,85	368
35	(1R,2R)-N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]-2-fenilciclopropano-carboxamida			3,4	393
36	N-[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]ciclohexano-carboxamida			3,28	359

Ejemplo 37

3-Hidroxi-4-({[6-(1H-indol-4-il)-1H-indazol-4-il]amino}carbonil)-1-pirrolidinacarboxilato de fenilmetilo



- 5 A una solución de ácido 4-hidroxi-1-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-3-pirrolidincarboxílico (disponible de Fluorochem, 59 mg, 0,22 mmol) en DMF (1 ml) se añadió HATU (85 mg, 0,22 mmol) y la mezcla se agitó durante 10 min. Después se añadieron 6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-amina (46 mg, 0,19 mmol) y DIPEA (0,065 ml, 0,37 mmol) y la mezcla se dejó en reposo durante 18 h a 20 °C. El disolvente se eliminó con una corriente de nitrógeno y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa automática dirigida por masa (Procedimiento E), dando el compuesto del título (6 mg) como un sólido marrón. CLEM (Procedimiento C) *m/z* 496 [MH⁺]; T_r = 2,44 min.

Datos biológicos

Determinación de la fosforilación de AKT en linfocitos T expandidos usando citometría de flujo

Principio del ensayo

- 10 El ensayo mide la fosforilación de célula única de AKT en respuesta a la coestimulación de CD3/CD28 en linfocitos T expandidos con anti-CD3 y anti-CD28. La fosforilación de proteínas intracelulares se analiza usando un citómetro de flujo de carga en microplaca (MPL) Beckman Coulter FC500, después de marcar con anticuerpos específicos de fosfoproteína conjugados con fluorocromo. En este caso, la AKT fosforilada intracelular se marcó con anticuerpos monoclonales a fosfo-AKT S473 conjugados directamente a Alexa 488. Se realizan los gráficos de dispersión de la luz frente a dispersión de fluorescencia y se detecta la fosforilación de AKT como un aumento del % de las células activadas (pAKT).
- 15

Protocolo del ensayo

Plaqueo de células

- 20 Se retiran linfocitos T expandidos de matraces (véase el apéndice más adelante). Se centrifugan y se elimina el sobrenadante. Se resuspenden aglomerados en tampón de estimulación caliente (37 °C) (RPMI que contiene pen/strep/glutamina y el 5 % de FCS) y se centrifuga de nuevo. Se resuspenden aglomerados en 10-20 ml de tampón de estimulación en caliente y se realiza el recuento. Se ajusta la concentración de células a 1x10⁶ células/ml. Se añaden 45 ul de suspensión de células a pocillos de placas de poliestireno con fondo en forma de v y se incuban a 37 °C durante 90 minutos.
- 25 Se prepara la placa estimulante que contiene anti-CD3 (BDBiosciences N° de referencia 555329) y anti CD28 (BD Biosciences N° de referencia 555725). Se requieren 1-0,7 ug de cada anticuerpo por pocillo. Las soluciones madre de anticuerpos tiene una concentración de 1000 ug/ml. Se añade un volumen apropiado de solución de anticuerpo diluida a cada pocillo. La adición de 5 ul de cada solución madre a células da como resultado una concentración final de 1-0,7 ug de cada anticuerpo por pocillo.

Preparación de la placa de compuesto y adición de estimulante

- 30 Se añaden compuestos diluidos en serie (1/3) a los pocillos A1-H10 (las columnas 11 y 12 contenían células estimuladas y no estimuladas, respectivamente). La concentración máxima es 10 uM y la concentración de DMSO final resultante es el 0,15 % de DMSO. Estas etapas se automatizan generalmente usando un Beckman Coulter Biomek FX. El control positivo también está incluido en series de placas (como un paquete). El control positivo usando en este ensayo es GW450853X (LY294002). Se preparan soluciones madre de compuestos a una concentración 6,66 M y se diluyen de forma seriada 1 a 3 con DMSO al 100 % (Biomek FX 8-span). Se realizan replicados en placas (control) en el número requerido de placas. Cada pocillo contiene 0,75 ul de compuesto a una concentración 6,666 M en DMSO al 100 % (Se usa el protocolo de automatización Biomek). Se diluyen compuestos de solución madre diluida serialmente a 100 uM añadiendo 49,25 ul de tampón de estimulación.
- 35 Una dilución 1/10 adicional dará como resultado una concentración máxima de 10 uM que contiene el 0,15 % de DMSO. En este caso, se añaden 5 ul de cada compuesto diluido a placas que contienen 50 ul de suspensión celular en reposo. Las columnas 11 y 12 contienen únicamente tampón de estimulación y DMSO.
- 40

Tratamientos de células

- 45 Se ajusta la cubierta del Biomek con placas de compuesto y cajas de puntas según se requiera. Se disponen las placas de células en ubicaciones de cubierta apropiadas en el Biomek FX. Se comienza la transferencia mediante el programa de Biomek de 5 ul de cada compuesto a placas de células. Después de la adición de compuestos, cada placa se agita suavemente (600 rpm) durante 5 segundos. Una vez finalizado esto, se disponen las tapas en placas y se transfieren a una incubadora de dióxido de carbono. Se incuba en presencia de compuesto durante 30 min.

Estimulación celular

- 50 Se ajusta Biomek FX como para el protocolo de automatización. Se dispone la placa de estimulación en la cubierta. Se disponen las placas con células en posición y se añade estimulante. Se retiran las placas y se disponen de nuevo en la incubadora durante 19,25 minutos (el tiempo de estimulación total es de 20 min)

Fijación celular

Se ajusta la cubierta de Biomek como para el protocolo de fijación celular. Se vierte el fijativo precalentado (solución de paraformaldehído tamponada al 4 % o reactivo BD Cytofix) en el depósito y se dispone sobre la cubierta calentada (la temperatura se mantiene a 37 °C). Se centrifugan las placas durante 5 min a 1000 g. Se elimina el sobrenadante fijativo pipeteando, usando Biomek FX. Se rompen los aglomerados agitando los pocillos. Esto se realiza barriendo de forma sencilla la parte inferior de las placas con un mezclador de rotación. Se dispone una bandeja grande de hielo (capaz de soportar varias placas). Se disponen placas en el hielo y se añaden 200 ul de metanol al 90 % enfriado con hielo a cada pocillo. Se cubre y se deja en hielo durante 30 minutos. Se centrifugan las placas a 1000 g durante 5 minutos y se retira la solución de metanol. Se agitan formando un remolino las placas y se lavan con 100 ul de PBS. Se centrifugan de nuevo durante 5 min a 1000 g. Se elimina el sobrenadante y se agita el aglomerado. Se añaden 50 ul de solución de anticuerpo monoclonal de conejo fosfoespecífico Alexa fluor-488 fosfo-Akt (Ser 473) (CST N° de referencia 2336) (dilución 1/100 de solución madre de anticuerpos en solución de tinción). Se cubren las placas y se incuban en la oscuridad durante 60 minutos. Se centrifugan las placas (1000 g durante 5 min), se retira el sobrenadante y se lava una vez usando tampón de tinción. Se resuspenden aglomerados en 180 ul de tampón de tinción (PBS, 2,5 % de FCS, 0,02 % de Na₃N). Se analizan las placas usando citometría de flujo FC500 MPL.

Apéndice:

Expansión de linfocitos T

Recubrimiento de placas de cultivos de tejidos para la estimulación

Se añaden 1,5 ml de PBS que contenía MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1 mM, 5 ug/ml de anti-CD3 y 5 ug/ml de anti-CD28 a cada pocillo de la placa de cultivo de tejidos Costar de 6 pocillos y se incuban durante la noche a 37 °C en una incubadora de CO₂. Esto cubrirá la placa con los anticuerpos monoclonales (mAb). Se lavan los pocillos de las placas Costar una vez con 3 ml/pocillo de PBS.

Se resuspenden las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a una concentración de 2x10⁶ células/ml en el medio de crecimiento con IL-2 (10 ng/ml, R&D Systems N° de referencia 202-IL) y PHA (2 ug/ml, Sigma N° de referencia L2769). Se añaden 3 ml de suspensión celular a cada pocillo de una placa de cultivo de seis pocillos (Costar). Se incuban la placa a 37 °C en una incubadora de CO₂ hasta que sean confluentes, es decir, que el medio se torne amarillo. Después de cuatro días, se lavan los linfocitos estimulados de los pocillos de cultivo usando medio de crecimiento. Se cultivan los linfocitos en medio de crecimiento (RPMI GIBCO CT 5615 10% de FCS inactivado con calor, Hyclone, glutamina 2 mM GIBCO, Pen/Strep al 1% GIBCO, 1% de aminoácidos no esenciales, GIBCO, 1% de piruvato de sodio, GIBCO, Hepes 20 uM GIBCO, 1,75 ul/500 ml de 2-mercaptoetanol, Sigma) en un matraz de tamaño medio (T75) a una concentración de < 10⁶/ml con IL-2 (10 ng/ml) e IL-7 (1 ng/ml, R&D Systems N° de referencia 207-IL). Se deja que las células se expandan en fase de reposo a 37 °C en una incubadora de CO₂ durante 4-7 días. Durante este periodo de expansión, se controla el crecimiento de las células cada día y se potencia con 10 a 15 ml de medio de reposo con IL-2 (10 ng/ml) e IL-7 (1 ng/ml) dependiendo de cómo sea de confluyente el crecimiento. Si se requiere, se transfieren las células a un matraz más grande (T175). Las células a una concentración 1x10⁶/ml se tiñen con yoduro de propidio y se analizan mediante citometría de flujo. Las células apoptóticas se excluyen de los recuentos de células viables para los experimentos subsiguientes. Las células deberían ser > 80 % viables para su uso.

Ensayos con PI3K alfa, beta, delta y gamma

Principio del ensayo

La lectura del ensayo aprovecha la elevada afinidad específica de unión de PIP₃ por un dominio aislado de homología con pleckstrina (PH) en la generación de una señal. Brevemente, el producto de PIP₃ se detecta mediante desplazamiento de PIP₃ biotinilado desde un complejo de transferencia de energía que consiste en anticuerpo monoclonal anti-GST marcado con europio (Eu), un dominio de PH marcado con GST, PIP₃-biotina y estreptavidina-APC. La excitación del Eu provoca una transferencia de energía a APC y una emisión de fluorescencia sensibilizada a 665 nm. El PIP₃ formado mediante la actividad PI3quinasa compite por el sitio de unión en el dominio de PH, lo que tiene como resultado una pérdida de transferencia de energía y una disminución de la señal.

Protocolo del ensayo

Normalmente, los compuestos sólidos se siembran en placas con 0,1 ul de 100 % de DMSO en todos los pocillos (a excepción de las columnas 6 y 18) de una placa Greiner de fondo en V y de 384 pocillos, de bajo volumen. Los compuestos se diluyen en serie (4 veces en 100% de DMSO) a lo largo de la placa desde la columna 1 a la columna 12 y la columna 13 a la columna 24, dejando que las columnas 6 y 18 solo contengan DMSO, para proporcionar 11 concentraciones para cada compuesto de ensayo.

Los ensayos se realizan usando kit específicos de PI3-quinasa de Millipore (N° de catálogo 33-001) El kit de ensayo consiste en lo siguiente:

ES 2 526 966 T3

- 4x Tampón de reacción PI3K (contiene Hepes 200 mM a pH 7, NaCl 600 mM , MgCl₂ 40 mM , < 1 % de colato (p/v), < 1 % de Chaps (p/v), 0,05 % de azida sódica (p/v))
 - PIP2 (1mM)
 - 3 x Biotina PIP3 (50 µM)
- 5
- Mezcla de detección C (contiene KF 267 mM)
 - Mezcla de detección A (contiene 60 µg/ml de estreptavidina-APC)
 - Mezcla de detección B (contiene 36 µg/ml de anti-GST-europio (anti-GST-K) y 90 µg/ml de GST-GRP1-dominio PH y DTT 1mM)
 - Solución de detención (contiene EDTA 150 mM)
- 10
- Manualmente se añaden 3 µl del tampón de reacción (contiene 1mM de DTT) sólo a la columna 18 para el control de la inhibición al 100% (sin actividad) Manualmente se añaden 3 µl de 2X solución de enzima a todos los pocillos, a excepción de la columna 18. Se preincuba con el compuesto durante 15 minutos. Manualmente se añaden 3 µl de 2X solución de sustrato a todos los pocillos. (La columna 6 representa el control de inhibición 0 %)
- 15
- La placa se deja durante 1 hora (a cubierto de la luz) (únicamente en el caso de la gamma se requiere una incubación de 50 min) A todos los pocillos se añaden manualmente 3 µl de solución de detención/detección. La placa se deja durante 1 hora (a cubierto de la luz) El ensayo se lee en BMG Rubystar y los datos de proporciones se usan para calcular 11 curvas de puntos. NB La solución de sustrato (concentraciones) difieren con cada isoforma (véase más adelante)

Alfa

- 20
- 2x solución de sustrato que contiene ATP 500 µM, PIP2 16 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

Beta

2x solución de sustrato que contiene ATP de 800 µM, PIP2 de 16µM y 3X de biotina-PIP3 0,030µM.

Delta

2x solución de sustrato que contiene ATP 160 µM, PIP2 10 µM y 3X biotina-PIP3 0,030 µM.

25 Gamma

2x solución de sustrato que contiene ATP de 800 µM, PIP2 de 16µM y 3X de biotina-PIP3 0,030µM.

Procedimiento de análisis

Los datos se procesaron mediante algoritmo de ajuste de curva logística de 4 parámetros XC50 en base a la actividad.

- 30
- Se normalizan al % de inhibición entre los controles de alto y bajo porcentaje (0% y 100% de inhibición respectivamente)

Ajuste del módulo primario: Las asíntotas de pendiente, mínimo y máximo varían

Ajustes del módulo secundario: (1) Fijar la asíntota mínima, (2) Fijar la asíntota máxima, (3) Fijar las asíntotas mínima y máxima

- 35
- Ajuste de curva QC: pXC50 95% de relación CL >10

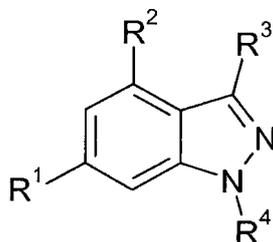
-20 < asíntota mínima < 20

80 < asíntota máxima < 120

- 40
- Los compuestos de los ejemplos 1 a 37 se analizaron en uno o más de los ensayos de PI3K alfa, beta, delta y/o gamma anteriores o ensayos similares y se encontró que tenían un pCl₅₀ medio de 5 o superior. Determinados compuestos se analizaron también en el ensayo de linfocitos T anterior o un ensayo similar y se encontró que tenían un pCl₅₀ de 5 o superior.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

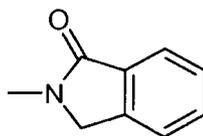


(I)

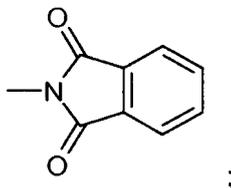
en la que

- 5 R¹ es un heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de forma independiente de oxígeno y nitrógeno, y está sustituido opcionalmente por alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, halo o -CN;

R² es -NHCOR⁵,



10 o



R³ es hidrógeno o flúor;

R⁴ es hidrógeno o metilo;

R⁵ es

- 15 cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con fenilo;

heterociclilo de 5 o 6 miembros, en el que el heterociclilo de 5 o 6 miembros contienen uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno y nitrógeno y está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, alquilo C₁₋₆, -OR⁶, -COR⁷, -CO₂R⁸ y -SO₂R⁹;

- 20 fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alquilo C₁₋₆, -OR¹⁰, halo y -NR¹¹R¹² y fenilo opcionalmente sustituido con halo; -CH₂-heteroarilo de 5 o 6 miembros en el que el heteroarilo de 5 o 6 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno y está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;

pirazina opcionalmente sustituida con -OR¹³; o heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene uno o dos átomos de nitrógeno;

- 25 R⁶, R¹¹, R¹² y R¹³ son cada uno, de forma independiente, hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

R⁷ y R⁹ son cada uno independientemente alquilo C₁₋₆;

R⁸ es hidrógeno o -(CH₂)_mfenilo;

R¹⁰ es alquilo C₁₋₆ sustituido opcionalmente con de uno a tres átomos de flúor; y

m es 0, 1 o 2;

- 30 o una sal del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ es un heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros, en el que el heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de forma independiente entre oxígeno y nitrógeno.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que R¹ es indolilo.

4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R² es - NHCOR⁵.
5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R³ es hidrógeno.
6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R⁴ es hidrógeno.
7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R⁵ es cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con fenilo.
8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- 2-fluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- 2,3-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- 10 2,5-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-metilbenzamida;
- 2'-cloro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-bifenilcarboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-isoquinolinacarboxamida;
- 2,4-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- 15 2,6-difluoro-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(metiloxi)benzamida;
- 2-[(difluorometil)oxi]-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]piridina-2-carboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-6-(metiloxi)-2-pirazinacarboxamida;
- 20 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-bencimidazol-2-carboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-indol-2-carboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-(metiloxi)benzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-5-metil-2-(metiloxi)benzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(3-metil-1*H*-pirazol-1-il)acetamida;
- 25 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metil-2-(metiloxi)benzamida;
- 2-((etiloxi)-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;
- 4-acetil-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-morfolinacarboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-(2-piridinil)acetamida;
- 2-[6-(1 *H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona;
- 30 2-[6-(1 *H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-1-ona;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-3-metilbenzamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-metil-2-morfolinacarboxamida;
- 1-acetil-*N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-4-piperidinacarboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-metil-4-piperidinacarboxamida;
- 35 *N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-(metilsulfonil)-4-piperidinacarboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-5-oxo-3-pirrolidinacarboxamida;
- N*-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-1-(1-metiletil)-5-oxo-3-pirrolidinacarboxamida;

N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]ciclopropanocarboxamida;

3-((dimetilamino)-N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;

4-amino-N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]benzamida;

(1*R*,2*R*)-N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]-2-fenilciclopropanocarboxamida;

5 N-[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]ciclohexanocarboxamida;

3-hidroxi-4-({[6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazol-4-il]amino}carbonil)-1-pirrolidinacarboxilato de fenilmetilo; o una sal de los mismos.

9. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en forma de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 **10.** Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

11. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia médica.

15 **12.** Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinasa.

20 **13.** Uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinasa.

14. Un compuesto para su uso según la reivindicación 12, en el que el trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinase es asma.

15. Un compuesto para su uso según la reivindicación 12, en el que el trastorno mediado por la actividad inadecuada de PI3-quinase es EPOC.